

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**VARIABILIDADE DA EMISSÃO DE CO₂ DO SOLO SOB
DIFERENTES MANEJOS EM ÁREAS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Mara Regina Moitinho

Bióloga

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**VARIABILIDADE DA EMISSÃO DE CO₂ DO SOLO SOB
DIFERENTES MANEJOS EM ÁREAS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Mara Regina Moitinho

Orientador: Prof. Dr. Newton La Scala Junior

Coorientador: Prof. Dr. Alan Rodrigo Panosso

Coorientador: Prof. Dr. Jackson A. Marcondes de Souza

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Ciência do Solo).

2017

M715v Moitinho, Mara Regina
Variabilidade da emissão de CO₂ do solo sob diferentes manejos em áreas de cana-de-açúcar / Mara Regina Moitinho. – – Jaboticabal, 2017
xix, 126 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Newton La Scala Junior
Coorientador: Alan Rodrigo Panosso
Coorientador: Jackson Antônio Marcondes de Souza
Banca examinadora: Antonio Sergio Ferraudo, Liziane de Figueiredo Brito, Tsai Siu Mui, João Luís Nunes Carvalho

Bibliografia

1. Atividade enzimática. 2. Solo-atributos. 3. Palha. 4. PCR em tempo real. 5. Solo-preparo. 6. Solo-respiração. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.417:633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: VARIABILIDADE DA EMISSÃO DE CO₂ DO SOLO SOB DIFERENTES MANEJOS EM ÁREAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

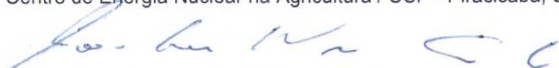
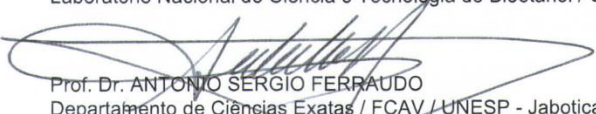
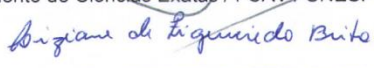
AUTORA: MARA REGINA MOITINHO

ORIENTADOR: NEWTON LA SCALA JUNIOR

COORDENADOR: JACKSON ANTONIO MARCONDES DE SOUZA

COORDENADOR: ALAN RODRIGO PANOSSO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. NEWTON LA SCALA JUNIOR
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal
Profa. Dra. TSAI SIU MUI
Centro de Energia Nuclear na Agricultura / USP - Piracicaba, SP
Prof. Dr. JOÃO LUÍS NUNES CARVALHO
Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol / Campinas, SP
Prof. Dr. ANTONIO SÉRGIO FERRAUDO
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal
Pós-doutoranda LIZIANE DE FIGUEIREDO BRITO
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 02 de março de 2017

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARA REGINA MOITINHO – Filha de Aurélio Rodrigues Moitinho Neto e Neuza da Silva Moitinho, nasceu em Paranhos-MS, no dia 23 de março de 1986. Em fevereiro de 2007, ingressou no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas no Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN), de Dourados-MS. Foi bolsista de iniciação científica do CNPq pela Embrapa Agropecuária Oeste de Dourados-MS, durante o período de fevereiro de 2009 até dezembro de 2010. Iniciou em março de 2011 o curso de Mestrado em Agronomia (Ciência do Solo), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV–UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP. No mês de fevereiro de 2013, submeteu-se à banca para a defesa de Dissertação, sendo aprovada como Mestre em Agronomia. Em março de 2013 iniciou o curso de Doutorado em Agronomia (Ciência do Solo), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV–UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP. Em março de 2017 submete-se à banca para defesa de Doutorado, sendo aprovada como Doutora em Agronomia.

Se for para desistir, desista de ser fraco.

(Will Detilli)

*Cada sonho que você deixa para trás,
é um pedaço do seu futuro que deixa de existir.*

(Steve Jobs)

DEDICO

Aos meus pais Aurélio Rodrigues Moitinho Neto e Neuza da Silva Moitinho, pessoas a quem devo tudo o que sou. Aos meus irmãos Maria Cristina Moitinho e Aurélio Rodrigues Moitinho, por estarem sempre presentes, mesmo na distância.

Aos meus sobrinhos Jean Carlos Moitinho de Quadros e Jéssica Mayara Moitinho de Quadros.

OFEREÇO

Ao meu companheiro Luís Guilherme Vidal, pelo seu carinho, dedicação, apoio incondicional e parceria no enfrentamento das dificuldades durante todos esses anos de convívio.

À Mili pelos 14 anos de alegria que proporcionou a minha vida.
Amor eterno (*in memoriam*).

As minhas “criaturinhas de quatro patas”... **Amores da minha vida.**

AGRADECIMENTOS

A Deus sempre presente em todos os momentos de minha vida iluminando meus caminhos.

Ao professor Newton La Scala Junior, pela orientação na condução deste estudo, seus ensinamentos, paciência, confiança e apoio.

Ao professor Alan Rodrigo Panosso por todo o apoio desde sempre, pela grande contribuição na estruturação e desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Jackson Antônio Marcondes de Souza pela coorientação.

Aos professores membros da Banca de Qualificação: Marcílio Vieira Martins Filho, Gener Tadeu Pereira, Glauco de Souza Rolim e Daniel De Bortoli Teixeira. E aos professores membros da Banca de Defesa: Antonio Sergio Ferraudo, Tsai Siu Mui, Liziane Figueiredo de Brito e João Luís Nunes Carvalho, pela atenção e, principalmente, pelas críticas e sugestões que contribuíram de forma significativa para a qualidade final deste estudo.

Ao “irmão que eu escolhi” Daniel De Bortoli Teixeira pelo agradável convívio todos esses anos, muito obrigada pela parceria, amizade e tudo que fez e ainda faz por mim.

Aos amigos e colegas de departamento, Elton da Silva Bicalho, Ricardo de Oliveira Bordonal, Eduardo Barretto de Figueiredo, Bruna de Oliveira Silva, Gustavo André de Araújo, Clariana Valadares Xavier, Luma Souza de Castro, Risely Ferraz de Almeida, José Reinaldo Moraes, Kamila Cunha de Meneses, Taynara T. B. Valeriano, Victor B. Moreto, Camila Vieira da Silva e Katharine Batista, pessoas maravilhosas que tornaram meus dias mais agradáveis.

Ao professor Antonio Sergio Ferraudo pelas orientações, palavras de incentivo, parceria, carinho e amizade, mas principalmente, pelo grande amor que despertou em mim pela análise multivariada.

Ao professor Gener Tadeu Pereira pela ajuda com as análises geoestatística, sempre muito solícito e amável.

Aos professores do departamento de Ciências Exatas: Adhemar Sanches, Amanda Liz Pacífico Manfrim, Andreia da Silva Meyer, Danísio Prado Munari, Dilermando Perecin, Euclides Braga Malheiros, Glauco De Souza Rolim, João Ademir De Oliveira, Jose Carlos Barbosa e Nelson José Peruzzi muito obrigada pelo agradável convívio,

além de serem profissionais excelentes são pessoas maravilhosas.

Aos amigos e funcionários do departamento de Ciências Exatas, Maria José Servidone Trizólio (Zezé), Shirley Aparecida Martineli de Sousa, Norival Ignacio, Adriana Elisabete Takakura, Vanessa Sayury Souza e Carlos Alberto Santa Capita (Carlão) pelo enorme carinho e amizade que demonstraram a mim todos esses anos.

À professora Tsai Siu Mui pelo compartilhamento de seu conhecimento e disponibilização do laboratório, materiais, equipamento e pessoal para a realização das análises microbiológicas.

Ao Gilberto Aparecido Rodrigues, Marcelo Jara Davalo, João Fernandes da Silva Junior pelo apoio nas avaliações à campo e amostragem de solo. A contribuição de vocês foi crucial na condução deste estudo.

À Marcelo Barbosa, Beatriz Ferrari e Fabiana Cannavan pela enorme ajuda com as análises microbiológicas, sem a qual não seria possível o desenvolvimento deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV–UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP, pela oportunidade de aprendizado.

Ao Grupo São Martinho pela concessão da área experimental e determinação das análises químicas do solo.

À Capes pelo apoio financeiro nos meses iniciais do doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (PROCESSO FAPESP nº. 2014/03634-3) pelo apoio financeiro para a condução deste estudo.

Muito obrigada por tudo!

SUMÁRIO

	Página
APRESENTAÇÃO	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xv
LISTA DE TABELAS	xvii
LISTA DE FIGURAS	xviii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	3
1.2.1 Agricultura e gases de efeito estufa	3
1.2.2 Manejo da cana-de-açúcar no Brasil e impactos na emissão de CO ₂ do solo ..	5
1.2.3 Emissão de CO ₂ associada as condições edafoclimáticas	8
1.2.4 Atividade microbiana <i>versus</i> emissão de CO ₂ do solo	9
1.2.4.1 Diversidade microbiana e técnicas moleculares	9
1.2.4.2 Atividade enzimática do solo e carbono da biomassa microbiana (CBM) ...	12
1.2.5 Variabilidade temporal e espacial da emissão de CO ₂ do solo	14
1.3 REFERÊNCIAS	17
CAPÍTULO 2 – Emissão de CO₂ associada aos atributos do solo em áreas de cana-de-açúcar sob sistemas de colheita crua e queimada	35
RESUMO	35
ABSTRACT	36
2.1 Introdução	37
2.2 Material e Métodos	39
2.2.1 Caracterização das áreas de estudo	39
2.2.2 Avaliação da emissão de CO ₂ , temperatura e umidade do solo	41
2.2.3 Determinação dos atributos físicos e químicos do solo	43
2.2.4 PCR quantitativo em Tempo Real	44
2.2.4.1 Extração de DNA das amostras ambientais	44
2.2.4.2 Detecção e quantificação dos genes 16S rRNA de Bactéria, pmoA e nifH por PCR quantitativo	45
2.2.5 Análises Microbiológicas	47
2.2.5.1 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)	47

2.2.5.2. Atividade Enzimática da Urease	48
2.2.5.3 Atividade Enzimática da Desidrogenase	48
2.2.5.4 Atividade Enzimática da Amilase	49
2.2.5.5 Atividade Enzimática da Celulase	49
2.2.6 Processamento e análise de dados	50
2.3 Resultados e Discussão	51
2.3.1 Variação temporal da FCO ₂ , Ts e Us	51
2.3.2 Variação dos atributos do solo em função do manejo: abordagens univariada e multivariada	58
2.4 Conclusões	71
2.5 Referências	72
CAPÍTULO 3 – Variabilidade espacial da emissão de CO₂ e atributos do solo associados a microbiota em área de reforma do canavial	83
RESUMO	83
ABSTRACT	84
3.1 Introdução	85
3.2 Material e Métodos	87
3.2.1 Localização e caracterização da área de estudo	87
3.2.2 Avaliação da emissão de CO ₂ , temperatura e umidade do solo	88
3.2.3 Determinação dos atributos físicos e químicos do solo	89
3.2.4 Análises Microbiológicas	91
3.2.5 PCR quantitativo em Tempo Real	91
3.2.5.1 Extração de DNA das amostras ambientais	91
3.2.5.2 Detecção e quantificação dos genes 16S rRNA de <i>Bacteria</i> , <i>pmoA</i> e <i>nifH</i> por PCR quantitativo	92
3.2.5.3 Carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade enzimática do solo ...	93
3.2.6 Processamento de dados e análise estatística	93
3.3 Resultados e Discussão	95
3.4 Conclusões	111
3.5 Referências	112
CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES	125

APRESENTAÇÃO

O presente estudo baseia-se na hipótese que em áreas agrícolas sob plantio de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), a conversão do sistema de manejo da colheita manual com queima para a colheita mecanizada da cana crua, bem como as operações de reforma do canavial após o ciclo da cultura provocam modificações nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo, refletindo na dinâmica de decomposição do carbono, expresso pelas variações nos padrões de emissão de CO₂ do solo. Desta forma, o objetivo geral do estudo foi caracterizar as variações espaciais e temporais da emissão de CO₂ do solo associada aos atributos químicos, físicos e microbiológicos do solo em áreas de cana-de-açúcar sob sistema de colheita de cana crua e cana queimada, e após as atividades de reforma do canavial.

Para atingir esse objetivo o estudo foi desenvolvido sob duas condições experimentais de campo. Na primeira condição (Capítulo 2) as avaliações foram conduzidas em duas áreas adjacentes, apresentando diferentes sistemas de manejo de colheita da cana-de-açúcar: cana crua (colheita mecanizada da cana crua e com retenção de resíduos da cultura sobre o solo) e cana queimada (queima do canavial e colheita manual sem resíduos sobre o solo). No Capítulo 2, os objetivos específicos foram: caracterizar o processo de emissão de CO₂ do solo em áreas de cana-de-açúcar, nos sistemas de colheita da cana crua e cana queima, bem como investigar a relação entre a emissão de CO₂ e os atributos do solo em ambos os sistemas.

Na segunda condição de campo (Capítulo 3), o estudo também foi conduzido em área agrícola, sendo que as avaliações ocorrem após as atividades de reforma do canavial, tais atividades incluíram: preparo convencional, calagem e gessagem do solo. Na área foi instalada uma malha amostral contendo 100 pontos georreferenciados. Desta forma, o estudo focou-se em caracterizar os padrões da variabilidade espacial da emissão de CO₂ e dos atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo em agroecossistema afetado pelas atividades de preparo.

Cabe ressaltar que existem vários estudos na literatura que abordam a complexa relação da emissão de CO₂ com alguns atributos edáficos. Contudo são poucos, os que avaliam em mesmo trabalho a relação de interdependência entre os atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo e estabelecem as relações desses com a emissão de CO₂ e suas variações na escala temporal e espacial.

VARIABILIDADE DA EMISSÃO DE CO₂ DO SOLO SOB DIFERENTES MANEJOS EM ÁREAS DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO – Embora a agricultura seja uma importante fonte emissora de CO₂ para a atmosfera, o tipo de uso e manejo do solo que vai coordenar o potencial de emissão em áreas agrícolas. Neste contexto, o presente estudo foi realizado em áreas destinadas à produção de cana-de-açúcar e conduzido sob duas condições experimentais de campo. Na primeira condição, o objetivo foi caracterizar o processo de emissão de CO₂ do solo (FCO₂) em áreas de cana-de-açúcar, nos sistemas de colheita mecanizada crua e manual com queima, bem como investigar a relação entre a emissão de CO₂ e os atributos do solo em ambos os sistemas. Foram utilizadas duas áreas adjacentes, apresentando diferentes sistemas de manejo de colheita da cana-de-açúcar: cana crua (CC) com grande quantidade de resíduos da cultura deixados sobre a superfície do solo após a colheita mecanizada, e cana queimada (CQ) com queima do canavial e colheita manual sem resíduo sob a superfície do solo. A FCO₂, a temperatura e a umidade do solo foram avaliadas em 20 pontos amostrais em cada área, sendo determinadas em 9 dias de avaliações, compreendidos em um período total de 28 dias. Posteriormente, foram coletadas amostras de solo, na profundidade de 0-0,20 m para a determinação dos atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo. A FCO₂ na área de cana queimada (2,63 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi, em média, 37% superior à emissão na área de cana crua (1,92 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). As variações temporais da FCO₂ e da umidade do solo foram correlacionadas nos manejos de cana crua ($R^2_{\text{adj}}=0,64$; $p<0,05$) e cana queimada ($R^2_{\text{adj}}=0,66$; $p<0,05$). O estoque de carbono, a temperatura, a umidade, a porosidade livre de água, a soma de bases e a abundância dos genes funcionais relacionados ao ciclo do carbono (*pmoA*) e nitrogênio (*nifH*) foram os atributos do solo mais representativos que ajudaram a caracterizar o processo de emissão de CO₂ em solos manejados com cana-de-açúcar sob sistema de colheita da cana crua e queimada. Na segunda condição experimental, o objetivo foi caracterizar os padrões da variabilidade espacial da FCO₂ e dos atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo em área de cana-de-açúcar após as atividades de reforma. Foram conduzidas 10 avaliações da FCO₂, temperatura e umidade do solo, em um gradeado regular de 90 × 90 m contendo 100 pontos amostrais inseridos na área após a reforma do canavial. Foram realizadas análises geoestatísticas para a avaliação da variação espacial e mapeamento dos atributos avaliados. Após o mapeamento da FCO₂, foram identificadas duas regiões (R1 e R2) na área em estudo com diferentes valores de emissão, nas quais foram determinadas a abundância dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH* por PCR quantitativo em tempo real (qPCR), e demais análises da atividade enzimática do solo. Os padrões espaciais da FCO₂ foram similares aos dos atributos: macroporos, porosidade livre de água, teor de silte, matéria orgânica e constante de decaimento do carbono do solo. Os resultados também indicaram que o padrão espacial da FCO₂ nas regiões R1 e R2 pode não estar relacionado diretamente com a quantidade total da comunidade microbiana (16S rRNA) presente no solo, mas sim, com a função específica que esses microrganismos desempenham em relação a degradação do carbono no solo (*pmoA*).

Palavras-chave: atividade enzimática, atributos do solo, palha, PCR em tempo real, preparo do solo, respiração do solo

VARIABILITY OF SOIL CO₂ EMISSION UNDER DIFFERENT MANAGEMENT SYSTEMS IN SUGARCANE AREAS

ABSTRACT – Although agriculture is an important emission source of CO₂ to the atmosphere, soil use and management will coordinate the emission potential in agricultural areas. In this context, this study was carried out in sugarcane production areas and under two experimental field conditions. In the first condition, the aim was to characterize soil CO₂ emission (FCO₂) process in areas under mechanized unburned and manual burned sugarcane harvesting systems, as well as investigate the relationship between emission and soil attributes in both systems. Two neighboring areas with different harvest management systems were used: an unburned sugarcane (US) area, with large amounts of crop residues left on the soil surface after mechanical harvest, and a burned sugarcane (BS) area, with manual harvest after burning the sugarcane field and without crop residue on the soil surface. FCO₂, soil temperature (Ts), and soil moisture (Ms) were assessed at 20 sampling points in each area with nine assessments over a period of 28 days. Subsequently, soil samples were collected at each point at a depth of 0–0.20 m to determine soil physical, chemical, and microbiological attributes. FCO₂ in BS area (2.63 μmol m⁻² s⁻¹) was, on average, 37% higher than the emission measured in US area (1.92 μmol m⁻² s⁻¹). Temporal variations of FCO₂ and Ms was correlated in US (R²_{adj} = 0.64; p<0.05) and BS (R²_{adj} = 0.66; p<0.05). Carbon stock, temperature, moisture, air-filled pore space, sum of bases, and abundance of functional genes related to carbon (*pmoA*) and nitrogen (*nifH*) cycles are the most representative soil attributes that helped to characterize CO₂ emission process in soils under US and BS systems. In the second experimental condition, the aim was to characterize the spatial variability patterns of FCO₂ and soil physical, chemical, and microbiological attributes in a sugarcane area after field reform activities. In this area, 10 measurements of FCO₂, Ts, and Ms were performed in a regular 90 × 90-m grid containing 100 sampling points inserted in the area after field reform. Geostatistical analyses were performed for assessing the spatial variation and mapping soil attributes. After FCO₂ mapping, two regions (R1 and R2) with different emission values were identified in the study area, in which was determined the abundance of 16S rRNA genes of *Bacteria*, *pmoA*, and *nifH* by quantitative real-time PCR (qPCR), in addition to other soil enzymatic activity analyses. The spatial patterns of FCO₂ were similar to those of macropores, air-filled pore space, silt content, organic matter, and soil carbon decay constant. The results also indicated that the spatial pattern of FCO₂ in the regions R1 and R2 may not be directly related to the total amount of microbial community (16S rRNA) in the soil, but to the specific function that these microorganisms play in relation to soil carbon degradation (*pmoA*).

Keywords: enzymatic activity, soil attributes, straw, real-time PCR, soil tillage, soil respiration

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al – Alumínio

C/N – Carbono/Nitrogênio

Ca – Cálcio

CBM – Carbono da biomassa microbiana

CC – Cana crua

CH₄ – Metano

CO₂ – Dióxido de carbono

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

CQ – Cana queimada

CRA – Capacidade de retenção de água

CTC – Capacidade de troca catiônica

CV – Coeficiente de variação

DP – Desvio-padrão

Ds – Densidade do solo

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPM – Erro-padrão da média

EstC – Estoque de carbono do solo

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FCO₂ – Emissão de CO₂ do solo

GEE – Gases de Efeito Estufa

H+Al – Acidez potencial

IPCC – *Intergovernmental Panel on Climate Change*

k – Constante de decaimento do carbono do solo

K – Potássio

Macro – Macroporosidade do solo

Mg – Magnésio

Micro – Microporosidade do solo

MOS – Matéria orgânica do solo

N₂O – Óxido nitroso

P – Fósforo

PBMC – Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas

pH – Potencial hidrogeniônico

PLA – Porosidade livre de água

qPCR – *quantitative Polymerase Chain Reaction*

rRNA – *ribosomal Ribonucleic Acid*

SB – Soma de bases

SS – Solo Seco

$t_{1/2}$ – Tempo de meia-vida do carbono no solo

TCC – Tripheniltetrazolio

TDR – Time Domain Reflectometry

TFSA – Terra fina seca ao ar

TPF – Trifenilformazan

Ts – Temperatura do solo

Us – Umidade do solo

V% – Saturação por bases

VTP – Volume total de poros

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 (Capítulo 2) – <i>Primers</i> utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de <i>Bacteria</i> , <i>pmoA</i> e <i>nifH</i>	46
Tabela 2 (Capítulo 2) – Desdobramento da interação entre os sistemas de manejo e o tempo (dias) para emissão de CO ₂ , temperatura e umidade do solo.	52
Tabela 3 (Capítulo 2) – Parâmetros da regressão linear entre a emissão de CO ₂ (FCO ₂) e umidade do solo (Us) para ambos os manejos.	56
Tabela 4 (Capítulo 2) – Estatísticas descritivas da emissão de CO ₂ , temperatura e umidade do solo, constante de decaimento e tempo de meia-vida do carbono no solo, juntamente com os atributos químicos e físicos do solo nos manejos avaliados. ...	59
Tabela 5 (Capítulo 2) – Resultado da análise de fatores contendo os três primeiros fatores (processos) com suas respectivas cargas fatoriais que representam os coeficientes de correlação entre os atributos do solo e cada Fator.	68
Tabela 1 (Capítulo 3) – <i>Primers</i> utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de <i>Bacteria</i> , <i>pmoA</i> e <i>nifH</i>	92
Tabela 2 (Capítulo 3) – Estatística descritiva dos atributos físicos e químicos avaliados na área de reforma.	96
Tabela 3 (Capítulo 3) – Modelos e parâmetros ajustados aos semivariogramas experimentais dos atributos do solo.	99
Tabela 4 (Capítulo 3) – Correlação entre os atributos do solo e os dois primeiros componentes principais (CP1-CP2).	110

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 (Capítulo 2) – Localização das áreas em estudo. Fonte: Google Earth. ..	39
Figura 2 (Capítulo 2) – Imagens ilustrativas das diferentes coberturas do solo nas áreas em estudo: cana crua (a), cana queimada (b).	40
Figura 3 (Capítulo 2) – Sistema LI-8100 (a) interligado à câmara de solos (b), sensor de temperatura (c) e umidade do solo (d).	42
Figura 4 (Capítulo 2) – Resultado da eletroforese em gel de agarose após a extração do DNA total do solo usando o kit FastDNA® SPIN Kit for Soil (a) e equipamento <i>StepOne Plus™</i> Real-Time PCR System (Applied Biosystems) utilizado para as reações de PCR quantitativos nos sistemas: CC = cana crua e CQ = cana queimada.	46
Figura 5 (Capítulo 2) – Valores diários médios da emissão de CO ₂ (a), temperatura (b) e umidade do solo (c) com barras de erro-padrão da média e precipitações ocorridas durante o período de estudo nos sistemas de manejo de cana crua e cana queimada.	53
Figura 6 (Capítulo 2) – Média ± erro-padrão da média da atividade enzimática da desidrogenase (a), urease (b), amilase (c) e celulase (d), carbono da biomassa microbiana (e) e relação C/N do solo (f) nos manejos de cana crua (CC) e queimada (CQ).	64
Figura 7 (Capítulo 2) – Média ± erro-padrão da média do número de cópias dos genes 16S rRNA de <i>Bacteria</i> (a), <i>pmoA</i> (b) e <i>nifH</i> (c) nos manejos de cana crua (CC) e cana queimada (CQ).	66
Figura 8 (Capítulo 2) – Representação gráfica com os escores do Fator 1 e os atributos associados ao processo de produção e transporte de CO ₂ nos manejos de cana crua (CC) e queimada (CQ). As barras verticais denotam intervalos de confiança de 0,95. FCO ₂ = emissão de CO ₂ do solo (μmol m ⁻² s ⁻¹); Ts = temperatura do solo (°C); PLA = porosidade livre de água (%); SB = soma de bases (cmol _c dm ⁻³); <i>pmoA</i> = gene funcional <i>pmoA</i> (g ⁻¹ de solo); <i>nifH</i> = gene funcional <i>nifH</i> (g ⁻¹ de solo) e Densidade = densidade do solo (g/cm ³).	70

Figura 1 (Capítulo 3) – Localização (a) e visão da área de estudo após as atividades de preparo do solo (b) e, malha amostral (c). 88

Figura 2 (Capítulo 3) – Distribuição espacial dos atributos do solo. FCO₂ = emissão de CO₂ do solo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); TS = temperatura do solo (°C); US = umidade do solo (%); pH = potencial hidrogeniônico; H+Al = acidez potencial ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Mg = teor de magnésio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Ca = teor de cálcio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); K = teor de potássio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); P = teor de fósforo (mg dm^{-3}); SB = soma de bases ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); CTC = capacidade de troca catiônica ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Al = teor de alumínio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); V% = saturação por bases (%); M% = saturação por alumínio (%); MOS = matéria orgânica do solo (g dm^{-3}); EstC = estoque de carbono do solo (Mg ha^{-1}); k = constante de decaimento do carbono do solo ($\text{d}^{-1} \times 10^{-4}$); DS = densidade do solo (g/cm^3); Macro = macroporosidade (%); Micro = microporosidade (%); VTP = volume total de poros (%); PLA = porosidade livre de água (%); Argila = teor de argila (%); Silte = teor de silte (%); Areia = teor de areia total (%). 101

Figura 3 (Capítulo 3) – Distribuição espacial da FCO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) com identificação de duas regiões distintas na área de reforma (R1 e R2) (a), representação gráfica destas duas regiões com a média $\pm$ erro-padrão da média do número de cópias dos genes 16S rRNA de *Bacteria* (b), *pmoA* (c) e *nifH* (d). 104

Figura 4 (Capítulo 3) – Média $\pm$ erro-padrão da média da atividade enzimática da desidrogenase (a), urease (b), amilase (c) e celulase (d), carbono da biomassa microbiana (e) e relação C/N do solo (f) nas regiões da área de reforma (R1 e R2). 106

Figura 5 (Capítulo 3) – Dendrograma mostrando a hierarquia de grupos (regiões da área de reforma) resultante da análise de agrupamento por método hierárquico. 109

Figura 6 (Capítulo 3) – Gráfico biplot contendo os atributos do solo e as regiões avaliadas. Urease = Atividade enzimática da urease; CBM = Carbono da biomassa microbiana; *pmoA* = gene funcional *pmoA*; FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; Desidrogenase = atividade enzimática da desidrogenase; Amilase = atividade enzimática da amilase e Relação C/N do solo. 110

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

Aumentar a eficiência de práticas convencionais de manejo, integrando e/ou substituindo por alternativas mais sustentáveis são, atualmente, considerados grandes desafios para os novos rumos da agricultura mundial, no sentido de conseguir uma produção agrícola sustentável e lucrativa, protegendo simultaneamente o meio ambiente (FAO, 2015).

O Brasil é globalmente importante para a segurança alimentar, sendo um dos maiores produtores e exportadores de importantes *commodities* agrícolas, como açúcar e soja. Essa posição de destaque agrícola mundial bem como o fato de que 75% das emissões de CO₂ advém de atividades agrícolas (CERRI et al., 2007), tem contribuído para posicionar o País como o 4º maior emissor mundial de gases de efeito estufa (IPCC, 2014). Dentre as potencialidades agrícolas, o País é o maior produtor mundial da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) com estimativa de 694,5 milhões de toneladas para a safra 2016/17 em uma área plantada de 9,1 milhões de hectares (FAO, 2014; CONAB, 2016).

Com a expansão agrícola intensifica-se a preocupação com as crescentes emissões de CO₂ oriundas de práticas de cultivo e manejo dos solos nos sistemas de produção. Para mitigar a emissão de CO₂ e reduzir a contribuição da agricultura na emissão de gases do efeito estufa, as estratégias mais eficientes consistem na diminuição da queima de combustíveis fósseis, minimização do desmatamento e queimadas, manejo adequado do solo, e por fim, na maximização do sequestro de carbono no solo (RAZAFIMBELO et al., 2006; LA SCALA; FIGUEIREDO; PANOSSO, 2012; THORBURN et al., 2012; CARMO et al., 2013; BICALHO et al., 2014; VARGAS et al., 2014; WANG et al., 2015). Contudo, tais medidas precisam ser avaliadas para cada sistema agrícola e suas características.

Para se avaliar a efetividade de um sistema de manejo, ou se comparar diferentes efeitos do uso da terra geralmente utiliza-se certos parâmetros, conhecidos como indicadores. Neste sentido a comunidade microbiana do solo tem sido muito útil para elucidar a dinâmica dos diversos manejos empregados no solo (LAUBER et al., 2013).

A estrutura e a funcionalidade das comunidades microbianas variam de acordo com as propriedades e o tipo de manejo e ocupação do solo (HAYDEN et al., 2010). Práticas de manejo do solo e da cultura determinam a disponibilidade de nutrientes, criando uma situação que pode tanto favorecer como inibir o crescimento de determinados grupos de microrganismos no solo (CARDOSO et al., 1992).

O uso agrícola também provoca alterações nos atributos físicos e químicos do solo, e consequentemente na taxa de respiração do mesmo, que é controlada por vários fatores, dentre eles, a temperatura, a quantidade e qualidade da matéria orgânica, a umidade, a densidade e a porosidade do solo (LA SCALA et al., 2006; USSIRI; LAL, 2009; CHEN et al., 2010; PANOSSO et al., 2011; ACRECHE et al., 2014; KARHU et al., 2014). Desta forma, as atividades que incluem o preparo do solo, bem como, as práticas de manejo da lavoura mantendo os resíduos sob o solo têm implicações importantes nas emissões de CO₂ (BRITO et al., 2009; KONDA et al., 2010; MOITINHO et al., 2015; TAVARES et al., 2015).

Ainda, as diferenças nas emissões de CO₂ dependem do tipo e da disposição dos resíduos (palhada da cultura) sob o solo, do clima, da intensidade do preparo e da incorporação ou não dos resíduos ao solo (TEIXEIRA et al., 2010; CORRADI et al., 2013; SILVA-OLAYA et al., 2013; IAMAGUTI et al., 2015).

Existem na literatura vários estudos avaliando a emissão de CO₂ em áreas de cana-de-açúcar, tanto em manejos de cana crua e queimada (LA SCALA et al., 2006; PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012; CARMO et al., 2013; BICALHO et al., 2014), quanto após as atividades de reforma do canavial (SILVA-OLAYA et al., 2013; IAMAGUTI et al., 2015). Fato interessante que se destaca na maioria desses estudos é a conclusão dos autores sobre o quão difícil é a caracterização do padrão da emissão de CO₂ em áreas agrícolas, uma vez que esta interage com os inúmeros fatores edafoclimáticos de forma altamente complexa, apresentando ainda, grande variabilidade no tempo e no espaço amostral.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Agricultura e gases de efeito estufa

As altas concentrações de gases na atmosfera, como o dióxido de carbono (CO_2), o metano (CH_4), o óxido nitroso (N_2O) e vapores d'água dão origem ao fenômeno conhecido como efeito estufa, sendo que a concentração desses gases vem aumentando drasticamente desde a era pré-industrial (1750) (IPCC, 2007, 2014).

Os gases de efeito estufa (GEE) estão relacionados principalmente à queima de combustíveis fósseis e as mudanças no uso e manejo do solo, especialmente na agricultura (VERMEULEN et al., 2012; GILBERT, 2012; SMITH et al., 2014). De acordo com os relatórios do IPCC (2014) as mudanças no uso e manejo do solo são responsáveis por aproximadamente um quarto das emissões globais de GEE, que incluem o desmatamento, emissões de metano na agropecuária e de óxido nitroso em solos fertilizados.

O Primeiro Relatório de Avaliação Nacional que compõe o Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas (PBMC) estimou um aumento sistemático de temperatura do ar próximo à superfície terrestre que varia de aproximadamente 2 °C (no cenário de baixa emissão) à 4 °C (no cenário de alta emissão), até o final do século XXI (PBMC, 2014). De acordo com as projeções futuras, a temperatura poderá subir em todos os biomas brasileiros, e embora a agricultura tenha sido apontada como uma importante fonte emissora de GEE para a atmosfera, o setor agrícola será também, o mais afetado devido às elevações na temperatura e alterações no regime de chuvas (PIVETTA, 2013). Estas possíveis alterações nos biomas brasileiros em resposta aos cenários de mudanças climáticas têm sido investigadas por meio de modelos biogeográficos ou modelos de biomas (OYAMA; NOBRE, 2003; SALAZAR et al., 2007; PBMC, 2014).

Em contrapartida, Porter et al. (2014) num estudo em contribuição ao grupo II de trabalho do IPCC, estimam que à nível global, os impactos do aumento de GEE na produção agrícola podem ser tanto positivos quanto negativos, embora os efeitos negativos dominem. Segundo os autores, os positivos incluem a extensão da produção agrícola nas regiões limitadas pela temperatura, diminuindo os impactos de congelamento, e os efeitos benéficos da fertilização de CO_2 sobre as culturas. Já os

efeitos negativos têm sido quase sempre relacionados com o aumento da seca (falta de precipitação, baixa umidade do solo), extremos de calor e altas precipitações.

Em adição, a demanda mundial de alimentos deverá aumentar 100% até 2050 (TILMAN et al., 2011), aumentando também a demanda por novas áreas agrícolas e recursos naturais. Vermeulen et al. (2012) concluem que o aumento da temperatura e da probabilidade de inundações vai desafiar a capacidade dos agricultores para armazenar com segurança e distribuir alimentos, aumentando o risco de doenças transmitidas por alimentos. Ainda de acordo com os autores, produtores e consumidores de baixa renda serão mais vulneráveis às alterações climáticas devido à sua capacidade relativamente limitada para investir em instituições e tecnologias adaptativas sob crescentes riscos climáticos.

Thornton (2012) discute que o aquecimento global vai mudar mais do que apenas o clima, a produção das mais comuns das *commodities*, tais como: trigo, milho e arroz será desafiada por novos padrões climáticos, algumas destas, por exemplo, podem crescer em clima quente, mas não conseguem resistir aos insetos e doenças cuja prevalência aumenta. Outras podem tolerar a falta de água, mas não a inundação esporádica que ocorrerá com os extremos climáticos mais comuns.

Embora o panorama apresentado não seja favorável, vários autores reforçam em seus estudos a ideia que mesmo sendo considerada vilã, dependendo do manejo do solo, a agricultura pode contribuir, e muito, para a mitigação das mudanças climáticas no presente e no futuro, fornecendo biomassa para a melhoria do sistema produtivo agrícola, e conservando ou até mesmo, otimizando os estoques de carbono dos ecossistemas (GALDOS et al., 2009; PANOSSO et al., 2011; SMITH et al., 2014; CARMO et al., 2013).

Smith et al. (2008) estimaram que em 2030 o potencial de mitigação global dos GEE provenientes da agricultura será de aproximadamente 5.500-6.000 Mt CO₂-eq. ano⁻¹. Portanto, uma compreensão do ciclo do carbono nos ecossistemas agrícolas é de fundamental importância para a mitigação das emissões de GEE em áreas de cultivo.

1.2.2 Manejo da cana-de-açúcar no Brasil e impactos na emissão de CO₂ do solo

O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). A cultura está entre as mais cultivadas no País. A produção estimada para a safra 2016/17 é de 694,5 milhões de toneladas. A área cultivada foi de 9.073,7 mil hectares, aumento de 4,8%, se comparada com a safra 2015/16, distribuídas em todos os estados produtores, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor, respondendo por 51,7%, com 4.687,6 mil hectares de área plantada (CONAB, 2016).

Diante da expansão do setor sucroenergético, mudanças no sistema de manejo da cana-de-açúcar podem ter um significativo impacto na produção brasileira (GALHARTE et al., 2014).

A prática da queima dos canaviais ainda é adotada nas diversas regiões canavieiras do País. O canavial é queimado alguns dias antes da operação de colheita manual com o objetivo de diminuir a quantidade de palha e, desta forma, facilitar as operações de corte e o carregamento mecânico. Entretanto, essa prática causa grandes emissões de gases de efeito estufa (CO₂, N₂O e CH₄) e partículas nocivas para a atmosfera (LIMA, 1999).

A Lei 11.241, de 19/09/2002, regulamentada pelo Decreto Estadual 47.700, estipulou um cronograma para a eliminação em 100% da queima nos canaviais, a partir do mesmo ano da criação da Lei, com prazo final em 2021 para áreas mecanizáveis e em 2031 para áreas não mecanizáveis (SÃO PAULO, 2002). Estima-se que cerca de 90% dos canaviais na região Centro-Sul são colhidos mecanicamente, sem queima da palha na pré-colheita (NUNES et al., 2014).

Neste sentido, as mudanças nas práticas de manejo da cultura, com a conversão de grandes áreas de um sistema de manejo com queima do canavial para a colheita mecanizada sem queima têm sido consideradas mais importante que a expansão agrícola da cana-de-açúcar (GALDOS, 2009).

O sistema de colheita mecanizada da cana crua proporciona a deposição de até 15 t ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca dos resíduos sob o solo, o que resultaria em acúmulo de carbono nas camadas mais superficiais do mesmo (RAZAFIMBELO et al., 2006; GALDOS et al., 2009; CANELLAS et al., 2010; CARVALHO et al., 2016).

Desta forma, o sistema de colheita de cana crua torna-se eficiente no processo de mitigação de GEE, pois o carbono que seria emitido imediatamente para a atmosfera durante a queima do canavial, poderá permanecer no sistema, e assim ser incorporado ao solo (RESENDE et al., 2006). A cana-de-açúcar é uma planta muito eficiente na utilização e resgate do CO₂ atmosférico. Essa cultura tem a capacidade de retirar da atmosfera e incorporar em sua fitomassa uma grande quantidade de CO₂, em torno de 100 t ha⁻¹ ano⁻¹, o equivalente acerca de 30 t ha⁻¹ ano⁻¹ de carbono (RONQUIM, 2007).

Contudo, em períodos mais longos, o mesmo sistema pode passar a emitir mais CO₂, como resultado da mineralização desse material vegetal, decorrente da atividade microbiológica do solo. Neste cenário, portanto, não somente existe a emissão de CO₂ do solo, mas também ocorre a liberação de CO₂ oriunda da degradação da palha da cana-de-açúcar (CARMO et al., 2013; VARGAS et al., 2014). A adição ao solo de grandes quantidades de resíduo com alta relação C/N, a exemplo da palha de cana-de-açúcar que apresenta, em média, uma relação C/N de aproximadamente 100, promove a multiplicação dos microrganismos quimiorganotróficos, além de motivar a competição pelo N disponível entre os microrganismos que atuam diretamente na decomposição da matéria orgânica (SIX et al., 2006; VARGAS et al., 2014).

Com o término do ciclo da cana-de-açúcar, ou seja, quando o aproveitamento da rebrota é encerrado, procede-se a reforma do canavial. Neste momento o produtor ou a usina podem optar por: (i) cultivo opcional de uma cultura em rotação, geralmente uma leguminosa; (ii) permanência da área em pousio durante o período entre a colheita da cana-de-açúcar; ou, (iii) a implantação do novo canavial e renovação imediata da área seguindo com o plantio da cana planta (CHIARADIA et al., 2009).

A reforma dos canaviais é um procedimento comum do setor sucroenergético sendo geralmente realizada a cada cinco ou seis anos dependendo da produtividade da cultura. Esse procedimento faz-se necessário após vários cortes consecutivos da cana-de-açúcar, os quais afetam o estado nutricional do solo e da planta com consequente decréscimo na produtividade (SOARES et al., 2011).

A reforma do canavial consiste no preparo intenso do solo, composto por gradagens e aragens com profundidade de trabalho variando entre 20 e 30 cm. Além

da aplicação de calagem e gessagem para correção do solo, e insumos oriundos da indústria sucroenergética.

O preparo modifica a arquitetura do solo e, assim, altera a umidade e as condições de temperatura do mesmo, reduz e leva os resíduos de plantas depositados na camada cultivada (liteira) para as camadas mais profundas do solo. Essas alterações nas propriedades físicas, bem como a perturbação mecânica dos agregados, influenciam os microrganismos na decomposição da matéria orgânica do solo (SOANE et al., 2012). Esta prática de manejo causa interações complexas entre a disponibilidade de água e substrato para os microrganismos nas camadas superficiais do solo, afetando a atividade de mineralização, que regula o carbono do solo.

Além das atividades empregadas de preparo do solo (TEIXEIRA et al., 2010; SILVA-OLAYA et al., 2013; IAMAGUTI et al., 2015), a calagem para a correção do pH também incrementa significativamente as emissões de CO₂ do solo (MARCELO et al., 2012; SILVA et al., 2014; FIGUEIREDO et al., 2015). A calagem contribui para elevar as emissões de CO₂ do solo devido à dissolução química do carbonato, liberando bicarbonato (2HCO₃-), que evolui para CO₂. Além das mudanças nos processos biológicos que aumentam a mineralização do carbono orgânico do solo em resposta ao aumento do pH (BAILEY; SMITH; BOLTON, 2002; FUENTES et al., 2006). A calagem propicia o aumento da biodisponibilidade que é um processo de desestabilização onde a matéria orgânica do solo torna-se menos resistente à degradação e mais acessível aos microrganismos e enzimas do solo (SOLLINS; HOMAN; CALDWELL, 1993).

Em solos ácidos, a calagem pode criar melhores condições ambientais para o desenvolvimento de microrganismos intolerantes a estes ambientes, resultando no aumento da biomassa microbiana e respiração do solo (BEZDICEK; BEAVER; GRANATSTEIN, 2003).

Desta forma, La Scala, Figueiredo e Panosso (2012) reportam que, no processo de reforma do canavial, grande parte do carbono pode ser perdido em curto período de tempo, reduzindo o potencial de sequestro de carbono no sistema de colheita da cana crua.

1.2.3 Emissão de CO₂ associada as condições edafoclimáticas

Embora o sistema agrícola possa contribuir para a mitigação do CO₂ atmosférico, os atributos do solo aliados às condições climáticas coordenam o potencial de emissão de CO₂ dos solos agrícolas.

Dentre os atributos do solo relacionados aos processos de produção e transporte do CO₂ do interior do solo à atmosfera, a temperatura e a umidade do solo estão diretamente envolvidas, controlando tais processos em intensidade e frequência (EPRON et al., 2006; LAL, 2009). Em relação ao transporte do gás CO₂, além do teor de umidade, a textura e a estrutura do solo (BALL; SIMTH, 1991; KANG et al., 2000) apresentam grande influência neste processo.

Em adição, as emissões de CO₂ do solo em áreas agrícolas resultam das interações entre o clima (LA SCALA et al., 2006; USSIRI; LAL, 2009; ACRECHE et al., 2014; KARHU et al., 2014; MOITINHO et al., 2015) e as propriedades físicas (XU; QI, 2001; DILUSTRO et al., 2005; CHEN et al., 2010; PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012; BICALHO et al., 2014), químicas (RETH et al., 2005; FUENTES et al., 2006; LAL, 2009) e biológicas do solo (DUIKER; LAL, 2000; LONGDOZ et al., 2000; KONDA et al., 2010; TAVARES et al., 2015). E até mesmo o relevo (BRITO et al., 2009; KONDA et al., 2010; HERBST et al., 2012) é apontado como um fator que influencia os valores da emissão de CO₂ do solo.

Ainda, a grande maioria desses atributos relacionam-se à emissão de CO₂, por afetarem de alguma forma a comunidade microbológica do solo e/ou a formação, a estabilização e a decomposição da matéria orgânica do solo (MOS).

A MOS é constituída de uma vasta gama de diferentes substâncias orgânicas, que podem ser classificadas de acordo com as suas características físicas, químicas ou biológicas. Uma porção de MOS pode ser protegida contra a decomposição química ou física. A proteção química envolve substâncias orgânicas a serem ligadas às superfícies minerais, quimicamente estabilizadas não sendo facilmente degradável (SIX et al., 2002). A proteção física envolve o fato da MOS estar situada dentro de agregados ou em pequenos poros inacessíveis pelos organismos decompositores (BALESDENT et al., 2000). Desta forma, o preparo do solo afeta significativamente a exposição da MOS e consequente a emissão de CO₂ devido à quebra desta proteção física.

As condições climáticas também são determinantes na intensidade destas emissões promovendo variações diárias. Essas atuam diretamente sobre a temperatura e umidade do solo (SOTTA et al., 2006; HERBST et al., 2012), promovendo efeitos sobre a atividade microbiana e de raízes (TSAI et al., 1992).

As precipitações afetam a dinâmica entre o movimento de água e gases no interior do solo. Elevações no conteúdo de água no solo, com a ocorrência de eventos pluviométricos, favorecem a expulsão de quantidades significativas de CO₂ do interior do solo, devido à infiltração de água nos espaços porosos (VARELLA et al., 2004; SMART; PEÑUELAS, 2005).

Contudo, cabe ressaltar que os fatores ambientais flutuam e, portanto, seus efeitos sobre a emissão de CO₂ também possuem grande variação (HU et al., 2011), pois estão associados ao manejo do solo (preparo, ausência ou presença de cobertura vegetal) e até mesmo com suas características texturais, uma vez que a respiração do solo é mais sensível a alterações bruscas no teor de água, em solos argilosos do que em solos arenosos (KAINIEMI, 2014). Em uma meta-análise, Moyano et al. (2012) concluíram que a respiração e a umidade do solo são positivamente correlacionadas em solos argilosos e negativamente em solos arenosos.

1.2.4 Atividade microbiana *versus* emissão de CO₂ do solo

1.2.4.1 Diversidade microbiana e técnicas moleculares

Estudos sobre a composição e fisiologia de comunidades microbianas nos solos são fundamentais no entendimento de como tais microrganismos influenciam e são influenciados pelo ambiente, principalmente em áreas agrícolas (MACDONALD et al., 2014; STONE; KAN; PLANTE, 2015).

A biodiversidade encontrada no ecossistema solo é constituída, principalmente, por organismos dos Domínios *Archaea* e *Bacteria* (TORSVIK et al., 1998). Estima-se que um grama de solo possa conter até 10 bilhões de microrganismos e milhares de espécies, sendo que apenas 1% dos microrganismos podem ser observados ao microscópio, cultivados e caracterizados (TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

Dentre os microrganismos do solo, as bactérias são o grupo mais estudado, e apresentam aproximadamente 10¹⁰ a 10¹¹ células (HORNER-DEVINE et al., 2003) e de 6.000 a 50.000 espécies (CURTIS; SLOAN; SCANNELL, 2002) por grama de solo.

A grande diversidade de microrganismos propiciou o desenvolvimento de métodos independentes de cultivo, empregando ferramentas poderosas baseadas na análise do DNA total extraído da microbiota do solo. Com as técnicas moleculares obtém-se informações sobre a diversidade genética total de uma determinada comunidade bacteriana presente no solo (TORSVIK et al., 1998). Essas técnicas podem contribuir para buscar a diversidade funcional de comunidades microbianas envolvidas nos principais processos do solo, tais como transformação de nutrientes, crescimento das plantas, desnitrificação, entre outros, e assim entender como esses influenciam no funcionamento dos sistemas agrícolas (GILLER et al., 1997; TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

As primeiras técnicas moleculares foram empregadas por Lane et al. (1985), nas quais foi realizada a análise direta das sequências dos genes rRNA 5S e 16S com o objetivo de determinar a diversidade de microrganismos em uma amostra retirada diretamente do ambiente. A técnica conhecida como filotipagem, desde então tem servido de base para o desenvolvimento de diferentes técnicas moleculares como: reação em cadeia da polimerase (PCR) (HANDELSMAN, 2004) e o emprego do gene ribossomal bacteriano como marcador da diversidade filogenética (MUYZER et al., 1998).

Dentre as técnicas moleculares, a PCR em Tempo Real (*Real-time polymerase chain reaction*) tem sido muito utilizada em amostras ambientais pois estima o número de cópias de um gene de interesse (HIGUCHI et al., 1993; NAVARRETE et al., 2015). Essa técnica envolve o sequenciamento de um trecho do DNA que seja informativo, contendo sequências conservadas e ao mesmo tempo variáveis do ponto de vista filogenético (CANAVANN, 2007) sendo considerada precisa e de maior reprodutibilidade (HIGUCHI et al., 1993). Por meio da qPCR é possível a quantificação de genes taxonômicos ou funcionais presente numa comunidade, permitindo ainda a quantificação de espécies individuais (SMITH; OSBORN, 2009).

Neste sentido é interessante determinar a atividade microbiana usando genes funcionais que são constitutivos (16S rRNA) e de aquisição de N₂ (*nifH*) por meio do DNA. Enquanto que o gene *pmoA*, o qual codifica a subunidade alfa da meano monooxigenase particulada (pMMO), é altamente conservado e, por isso, tem sido amplamente utilizado para a detecção das bactérias metanotróficas conhecidas. As

bactérias metanotróficas são importantes ambientalmente devido ao seu papel no ciclo do carbono e do oxigênio (COSTELLO; LIDSTROM, 1999). Tais particularidades viabilizaram a utilização deste gene como marcador filogenético (LUESKEN et al., 2011).

Neste contexto, o gene *pmoA* é associado ao ciclo do carbono pois em uma das etapas do ciclo ocorre a metanogênese que é a produção do gás metano pelas bactérias metogênicas. Posteriormente, o metano produzido pode ser oxidado a CO₂ pelas bactérias metanotróficas microaerófilas.

A noção de que os genes rRNA poderiam identificar um organismo reconstruindo sua filogenia, juntamente com a possibilidade de armazenar sequências em bancos de dados, resultou na rápida adoção do gene 16S rRNA por microbiologistas. Este gene é considerado o "padrão ouro", não só na filogenia bacteriana, mas também em estudos de ecologia microbiana (EGERT; FRIEDRICH, 2003; FORNEY; ZHOU; BROWN, 2004; CASE et al., 2007).

O gene 16S rRNA (ácido ribonucléico ribossomal) também apresenta região altamente conservada tanto dentro de uma espécie quanto entre espécies do mesmo gênero (HIRANO; UPPER, 1983). Portanto, a análise baseada no gene 16S rRNA é considerada um método padrão para a identificação de bactérias em níveis de família, gênero e espécie (JENG et al., 2001).

O gene *nifH* é o biomarcador mais utilizado para estudar a ecologia e a evolução das bactérias fixadoras de nitrogênio (RAYMOND et al., 2004). A dinâmica do carbono e do nitrogênio dentro do ecossistema engloba os processos fisiológicos que ocorrem na planta e no solo. Desta forma, os processos que ocorrem no ciclo do carbono interferem diretamente nos processos do ciclo nitrogênio e vice-versa (SILVA, 2014).

Para compreender a dinâmica e a interdependência desses dois elementos no ecossistema torna-se imprescindível a avaliação da relação C/N do solo. A relação C/N é um índice que permite avaliar o grau de evolução da matéria orgânica do solo (MOS), a atividade biológica do solo e a capacidade de produzir formas nitrogenadas assimiláveis (SOUSA, 2003; SILVA, 2014).

Quanto mais elevada a relação C/N mais lenta será a velocidade de decomposição da MOS. Neste caso, o nitrogênio será imobilizado pelos

microrganismos. De forma contrária, quanto mais baixa for a relação C/N, mais fácil será a decomposição da MOS e consequentemente o nitrogênio será liberado (BRAGA, 2015).

Sobre tais condições, alguns estudos sustentam que para estimular a decomposição de materiais ricos em carbono faz-se necessário a adição de nitrogênio ao solo (RECOUS; AITA; MARY, 1999; MARQUES et al., 2000).

Dentro deste contexto, e de acordo com Pessoa Filho (2010), para uma melhor compreensão sobre a diversidade e função gênica dos microrganismos é necessário que associada às técnicas moleculares sejam coletadas informações sobre o ambiente de estudo, dados da química e física do solo, tipo de vegetação presente na área sendo todos esses dados analisados conjuntamente.

1.2.4.2 Atividade enzimática do solo e carbono da biomassa microbiana (CBM)

A determinação das enzimas presentes do solo também fornece indícios sobre a diversidade funcional da comunidade microbiana, pois a origem das enzimas do solo é principalmente microbiana. Essas podem ser encontradas dentro de células microbianas, bem como extracelularmente no solo, ligadas a minerais de argila e substâncias húmicas (CORDEIRO et al., 2012).

A atividade enzimática do solo é variável no tempo e limitada pela disponibilidade de substrato disponível (DEGENS, 1998), e pode fornecer uma ligação eficaz entre a composição da comunidade microbiana e a dinâmica do carbono no solo (WALDROP et al., 2000).

A atividade enzimática é sensível as transformações biológicas do solo e responsivas às mudanças no manejo do solo e da cultura por estarem diretamente relacionadas com as transformações dos nutrientes (YANG et al., 2008).

As enzimas de solo estão envolvidas na catálise de um grande número de reações necessárias para os processos vitais dos microrganismos, na decomposição orgânica de resíduos, na ciclagem de nutrientes, na formação de matéria orgânica do solo e na estrutura do solo (WU et al., 2014).

Desta forma, a presença de enzimas no solo é resultado da síntese de determinados grupos de microrganismos, uma vez que o estabelecimento desses

grupos vai depender, por exemplo, da presença de carboidratos específicos, a exemplo da celulose e do amido (CORDEIRO et al., 2012).

As celulasas são responsáveis pela hidrólise da celulose em açúcares no meio ambiente, e a celulose é a mais abundante fonte de energia renovável do planeta, compreendendo quase metade da biomassa sintetizada pela fixação fotossintética de CO_2 (ONSORI et al., 2005). Vários microrganismos, incluindo fungos e bactérias, utilizam a celulose como fonte de carbono.

Desta forma, a celulase está entre as principais enzimas microbianas envolvidas na mineralização da matéria orgânica do solo (PANCHOLY; RICE, 1973).

As enzimas celulasas sintetizadas por fungos têm um papel crucial na reciclagem C e nutrientes e manutenção da fertilidade do solo. A degradação da celulose libera glicose como produto final. Sob condições aeróbicas, a glicose é oxidada para CO_2 e devolvida à atmosfera. Em condições anaeróbicas, a degradação da glicose liberta tanto metano (CH_4) como CO_2 para a atmosfera (DENG, 1994).

Já a amilase é uma enzima complexa que hidrolisa o amido ao açúcar redutor (glicose). As amilases estão inseridas no grupo das hidrolases e ligadas ao ciclo biológico do carbono (GUEDES, 2013), são as enzimas mais abundantes na natureza, e de reconhecida importância nos processos de decomposição da matéria orgânica e disponibilização de nutrientes ao solo (BARBOSA, 2015). A atividade dessa enzima pode ser um importante indicador da atividade microbiológica do solo, uma vez que estudos reforçam a sua sensibilidade as alterações nos substratos oriundos de diferentes agroecossistemas (DODOR; TABATABAI, 2003; SANOMIYA; NAHAS, 2004; GUEDES, 2013; BARBOSA, 2015).

As desidrogenases do solo são as principais representantes da classe de enzimas óxido-redutase (GU; WAG; KONG, 2009). Dentre as diversas enzimas presentes no solo, a medida da atividade da desidrogenase é bastante utilizada, pois reflete a atividade oxidativa total da microbiota do solo, ocorre intracelularmente em todas as células microbianas vivas (SALAZAR et al., 2011), e não acumulam extracelularmente no solo (GU; WAG; KONG, 2009). A atividade enzimática da desidrogenase também é considerada um indicador sensível às alterações do uso e manejo do solo, desempenhando um papel significativo na oxidação biológica da matéria orgânica do solo (ZHANG et al., 2010).

A urease é uma enzima extracelular responsável por catalisar a hidrólise de exoenzimas da ureia para formar dióxido de carbono e amônio, sendo amplamente distribuída na natureza, seu principal papel no ambiente é a disponibilização de nitrogênio para as plantas, e também atua no transporte de nitrogênio via sistêmica (DUCROS, 1997; SAMBORSKA; STEPNIEWSKA; STEPNIEWSKI, 2004).

De acordo com Lana et al. (2010), a determinação da atividade enzimática da urease em solos agrícolas pode fornecer indícios do potencial desses solos em converter nitrogênio orgânico em mineral.

O carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) é considerado a parte viva da matéria orgânica do solo, representando de 2 a 5% desta fração no solo (JENKINSON; LADD, 1981), sendo parcialmente composto por uma diversidade de microrganismos que atuam como agentes de transformação da MOS, assim como na ciclagem de nutrientes (WARDLE, 1992; BARBOSA, 2015).

Em termos de ciclo energético e de transferência de nutrientes, o carbono da biomassa microbiana do solo é extremamente sensível, respondendo rápido às pequenas alterações na matéria orgânica decorrente de mudanças nas condições ambientais (YANG et al., 2016).

1.2.5 Variabilidade temporal e espacial da emissão de CO₂ do solo

A estrutura espacial dos atributos do solo é afetada por inúmeros fatores de uma forma altamente complexa devido à covariação espacial e temporal entre os fatores influenciadores (FÓTI et al., 2016). A variabilidade destes é contínua ao longo das superfícies e dependente da escala (ZHAO et al., 2009), uma vez que, os atributos do solo resultam da combinação de diversas interações dos processos biológicos, químicos e físicos atuando em escalas múltiplas (PARKIN, 1993). Em adição, as práticas de manejo do solo também contribuem para aumentar essa variabilidade pois afetam as características do mesmo (PANOSSO et al., 2009).

Em áreas agrícolas e de floresta, a resposta da emissão de CO₂ as condições de temperatura e umidade do solo, pode variar tanto espacial como temporalmente (LA SCALA et al., 2010; SAVVA et al., 2013; KONCZ et al., 2015).

De acordo com Kang et al. (2000), o microclima propiciado pela presença de cobertura vegetal sobre o solo em manejos conservacionistas, afeta as variações no

conteúdo de água do solo. Ainda segundo os autores esse manejo induz a heterogeneidade espacial ao afetar a capacidade de retenção de carbono, água e nutrientes.

Contudo, alguns autores discutem que um problema adicional em se modelar o fluxo de CO₂ com a temperatura e a umidade do solo, decorre do fato de que essas podem covariar, tornando-se impossível separar os seus efeitos sobre a emissão de CO₂ do solo (DAVIDSON et al., 2000; SCHWENDENMANN et al., 2003; SAVVA et al., 2013).

Em solos sem cobertura vegetal, a respiração é exclusivamente heterotrófica, ou seja, acontece pelo metabolismo de vários organismos associados aos substratos e compostos orgânicos (GRAF et al., 2010; HERBST et al., 2012).

Portanto, a variabilidade espacial e temporal dos fluxos de gases de efeito estufa no solo, a exemplo do CO₂, é ainda maior porque os gases são produzidos ou consumidos por uma grande variedade de organismos. O fluxo de CO₂ do solo para a atmosfera é o resultado da decomposição da serapilheira, da respiração da raiz, da decomposição das raízes mortas, da respiração fúngica e da respiração microbiana do solo, o que torna muito difícil a separação das diferentes fontes de CO₂ (KUZYSKOV, 2006).

Neste contexto, a maioria dos estudos sobre variabilidade da emissão de CO₂ observaram relações com a biomassa e a atividade da microbiana do solo (FANG et al., 1998; XU; QI, 2001; SCHWENDENMANN et al., 2003; KONDA et al., 2010).

O padrão espacial da microbiota do solo está frequentemente associado com as espécies de plantas, riqueza e biomassa presente no ambiente (HOOPER et al., 2000). Outro fator importante para caracterização das estruturas das comunidades do solo, são as alterações que ocorrem no ambiente (PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2015), principalmente associadas as práticas de manejo agrícola como a rotação de culturas, fertilização, irrigação, que promovem alterações nas características físico-química do solo (SINGH et al., 2011), e podem afetar os microrganismos do solo (JIMÉNEZ-BUENO et al., 2016).

A biomassa e a atividade microbiana são fundamentais para o funcionamento do ecossistema e são indicadores sensíveis de perturbações do solo. Eles podem apresentar alta variabilidade espacial, mesmo em agroecossistemas uniformemente

manejados (DUPUIS; WHALEN, 2007).

A textura do solo e a topografia também podem contribuir para a variação espacial e temporal da emissão de CO₂ do solo (BRITO et al., 2010; HERBST et al., 2012; FÓTI et al., 2016). As propriedades texturais do solo condicionam a variabilidade espacial dos teores de água no solo, que provavelmente têm influência direta sobre a variabilidade espacial da respiração em solos sem cobertura vegetal (HERBST et al., 2012).

A variabilidade espacial é frequentemente analisada por meio da abordagem geoestatística. Diversos autores, utilizam-se de técnicas geoestatísticas para determinar as características espaciais da emissão de CO₂ por meio do estudo de sua distribuição e variação espacial em solos desprovidos de vegetação (LA SCALA et al., 2000; HERBST et al. 2009; TEIXEIRA et al., 2011) e em solos de floresta ou com resíduos da cultura (FANG et al., 1998; XU; QI, 2001; PANOSSO et al., 2009; BRITO et al., 2010; KONDA et al., 2010).

Schwendenmann et al. (2003) observaram relações espaciais entre a emissão de CO₂, a concentração de fósforo no solo e a biomassa de raízes finas. Konda et al. (2010) também verificaram que, a distribuição das raízes finas e a atividade microbiana exerciam um efeito sobre a matéria orgânica do solo e a distribuição da liteira que apresentaram uma relação espacial com o fluxo de CO₂ do solo.

Xu e Qi (2001), em estudos conduzidos em áreas *Pinus ponderosa* concluíram que as propriedades do solo, como: biomassa microbiana, teor de matéria orgânica, densidade do solo e teor de magnésio trocável, foram as melhores variáveis para a modelagem da variabilidade espacial da emissão de CO₂ do solo. Fang et al. (1998), avaliando a variabilidade espacial da respiração do solo também em áreas de floresta, observaram a variabilidade espacial do fluxo de CO₂ do solo pode ser explicada pelas variações da biomassa dos organismos vivos e mortos associados à porosidade total do solo.

Na estatística clássica, geralmente, as consequências da heterogeneidade espacial sobre a representatividade dos valores médios dos atributos do solo são ignoradas (MONTANARI et al., 2010), o que justifica o emprego da técnica de geoestatística com o objetivo de caracterizar os padrões de variabilidade espacial desses atributos (PANOSSO et al., 2011).

Em adição, quando o objetivo é se estabelecer relações para uma tomada de decisão, deve-se levar em consideração um grande número de fatores e suas complexas relações de interdependência (VICINI, 2005). Neste contexto, a análise exploratória multivariada dos dados fornece um grande número de métodos e técnicas para explicar a estrutura de dependência contida no conjunto original das variáveis.

Quando se considera que a emissão de CO₂ apresenta complexas relações com as condições edafoclimáticas, a utilização da análise multivariada pode ser uma técnica muito promissora para se investigar determinadas características que propiciem a identificação de correlações naturais e de múltiplas influências sobre o seu comportamento (HAIR et al., 2005).

1.3 REFERÊNCIAS

ACRECHE, M. M.; PORTOCARRERO, R.; CHALCO VERA, J.; DANERT, C.; VALEIRO, A. H. Greenhouse gas emissions from green-harvested sugarcane with and without post-harvest burning in Tucumán. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 16, n. 2, p. 195–199, 2014.

BAILEY, V. L.; SMITH, J. L.; BOLTON, H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 7, p. 997–1007, 2002.

BALESDENT, J.; CHENU, C.; BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 53, n. 3–4, p. 215–230, 2000.

BALL, B. C.; SMITH, K. A. Gas movement. In: SMITH, K.; MULLINS, C. (Eds.). **Soil analysis: physical methods**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 511–549.

BARBOSA, M. A. **Atributos microbiológicos do solo em sistemas de manejo de longa duração**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

BEZDICEK, D. F.; BEAVER, T.; GRANATSTEIN, D. Subsoil ridge tillage and lime effects on soil microbial activity, soil pH, erosion, and wheat and pea yield in the Pacific Northwest, USA. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 55–63, 2003.

BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; MIRANDA, J. G. V.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial variability structure of soil CO₂ emission and soil attributes in a sugarcane area. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 189, p. 206–215, 2014.

BRAGA, G. N. M. **Conhecer o N total na determinação da relação C/N do solo**. 2015. Disponível em: <<http://agronomiacomgismonti.blogspot.com.br/2015/04/conhecer-o-n-total-na-derminacao-da.html>>. Acesso em: 12 nov. 2016.

BRITO, L. F.; MARQUES Jr., J.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial variability of soil CO₂ emission in different topographic positions. **Bragantia**, Campinas, v. 69, supl. 0, p. 19–27, 2010.

BRITO, L. F.; MARQUES Jr., J.; PEREIRA, G. T.; SOUZA, Z. M.; LA SCALA, N. Soil CO₂ emission of sugarcane field as affected by topography. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 1, p. 77–83, 2009.

CANNAVAN, F. S. **Diversidade das comunidades bacterianas em solos de terra preta antropogênica da Amazônia Central e Oriental**. 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura, Piracicaba, 2007.

CANELLAS, L. P.; BUSATO, J. G.; DOBBS, L. B.; BALDOTTO, M. A.; RUMJANEK, V. M.; OLIVARES, F. L. Soil organic matter and nutrient pools under long-term non-burning management of sugarcane. **European Journal of Soil Science**, West Sussex, v. 61, n. 3, p. 375–383, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. 360 p.

CARMO, J. B.; FILOSO, S.; ZOTELLI, L.; SOUSA NETO, E. R.; PITOMBO, L. M.; VARGAS, V. P.; ANDRADE, C. A.; GAVA, G. C.; ELIA NETO, A.; CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R.; DUARTE NETO, P. J.; GAVA, G. J. C.; MARTINELLI, L. A. Infield greenhouse gas emissions from sugarcane soils in Brazil: effects from synthetic and organic fertilizer application and crop trash accumulation. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, v. 5, n. 3, p. 267–280, 2013.

CARVALHO, J. L. N.; NOGUEIROL, R. C.; MENANDRO, L. M. S.; BORDONAL, R. O.; BORGES, C. D.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H. C. J. Agronomic and environmental implications of sugarcane straw removal: a major review. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, p. 1–15, 2016.

CASE, R. J.; BOUCHER, Y.; DAHLÖF, I.; HOLMSTRÖM, C.; DOOLITTLE, W. F.; KJELLEBERG, S. Use of 16S rRNA and rpoB Genes as Molecular Markers for Microbial Ecology Studies. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 73, n. 1, p. 278–288, 2007.

CERRI, C. E. P.; SPAROVEK, G.; BERNOUX, M.; EASTERLING, W. E.; MELILLO, J. M.; CERRI, C. C. Tropical Agriculture and global warming impacts and mitigation options. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 64, n.1, p. 83-89, 2007.

CHEN, X.; DHUNGEL, J.; BHATTARAI, S. P.; TORABI, M.; PENDERGAST, L.; MIDMORE, D. J. Impact of oxygation on soil respiration, yield and water use efficiency of three crop species. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 1–13, 2010.

CHIARADIA, J. J.; CHIBA, M. K.; ANDRADE, C. A. D.; OLIVEIRA, C. D.; LAVORENTI, A. Produtividade e nutrição de mamona cultivada em área de reforma de canavial tratada com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 701–710, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, primeiro levantamento, 2016/17**. 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_09_39_02_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2016.

CORDEIRO, M. A. S.; CORÁ, J. E.; NAHAS, E. Atributos bioquímicos e químicos do solo rizosférico e não rizosférico de culturas em rotação no sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1794–1803, 2012.

CORRADI, M. M.; PANOSSO, A. R.; MARTINS FILHO, M. V.; LA SCALA, N. Crop residues on short-term CO₂ emissions in sugarcane production areas. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 699–708, 2013.

COSTELLO, A. M.; LIDSTROM, M. E. Molecular characterization of functional and phylogenetic genes from natural populations of methanotrophs in lake sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 65, n. 11, p. 5066–5074, 1999.

CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T.; SCANNELL, J. W. Estimating prokaryotic diversity and its limits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington-DC, v. 99, n. 16, p. 10494–10499, 2002.

DAVIDSON, E. A.; VERCHOT, L. V.; CATTÂNIO, H.; ACKERMAN, I. L.; CARVALHO, E. M. Effects of soil water content on soil respiration in forests and cattle pastures of eastern Amazonia. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 48, n. 1, p. 53–69, 2000.

DEGENS, B. P. Microbial functional diversity can be influenced by the addition of the simple organic substances to soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 1981–1988, 1998.

DENG, S. **Cellulase activity of soils and the effect of tillage management on enzyme activities in soils**. 1994. 244 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo – Microbiologia e Bioquímica) – Iowa State University, Ames, Iowa, 1994.

DILUSTRO, J. J.; COLLINS, B.; DUNCAN, L.; CRAWFORD, C. Moisture and soil texture effects on soil CO₂ efflux components in southeastern mixed pine forests. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 204, n. 1, p. 87–97, 2005.

DODOR, D. E.; TABATABAI, M. A. Amidohydrolases in soils as affected by cropping systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 73–90, 2003.

DUCROS, V. Chromium metabolism in humans. In: CANALI, S.; TITTARELLI, F.; SEQUI, P. (Eds.) **Chromium Environmental Issues**. Milan: Ageli, 1997. p. 181–194.

DUIKER, S. W.; LAL, R. Carbon budget study using CO₂ flux measurements from a no till system in central Ohio. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 54, n. 1–2, p. 21–30, 2000.

DUPUIS, E. M.; WHALEN, J. K. Soil properties related to spatial pattern of microbial biomass and respiration in agroecosystems. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 87, n. 5, p. 479–484, 2007.

EGERT, M.; FRIEDRICH, M. W. Formation of pseudo-terminal restriction fragments, a PCR-related bias affecting terminal restriction fragment length polymorphism analysis of microbial community structure. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 69, n. 5, p. 2555–2562, 2003.

EPRON, D.; BOSC, A.; BONAL, D.; FREYCON, V. Spatial variation of soil respiration across a topographic gradient in a tropical rain forest in French Guiana. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 22, n. 5, p. 565–574, 2006.

FANG, C.; MONCRIEFF, J. B.; GHOLZ, H. L.; KENNETH, L. C. Soil CO₂ efflux and its spatial variation in a Florida slash pine plantation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 205, n. 2, p. 135–146, 1998.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistics Division**. 2014. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. **Estimating greenhouse gas emissions in agriculture: A Manual to Address Data Requirements for Developing Countries**. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i4260e.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

FIGUEIREDO, E. B.; PANOSSO, A. R.; REICOSKY, D. C.; LA SCALA, N. Short-term CO₂-C emissions from soil prior to sugarcane (*Saccharum* spp.) replanting in southern Brazil. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, v. 7, n. 2, p. 316–327, 2015.

FORNEY, L. J.; ZHOU, X.; BROWN, C. J. Molecular microbial ecology: land of the one-eyed king. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 7, n. 3, p. 210–220, 2004.

FÓTI, S.; BALOGH, J.; HERBST, M.; PAPP, M.; KONCZ, P.; BARTHA, S.; ZIMMERMANN, Z.; KOMOLY, C.; SZABÓ, G.; MARGÓCZI, K.; ACOSTA, M.; NAGY, Z. Meta-analysis of field scale spatial variability of grassland soil CO₂ efflux: Interaction of biotic and abiotic drivers. **Catena**, Amsterdam, v. 143, p. 78–89, 2016.

FUENTES, J. P.; BEZDICEK, D. F.; FLURY, M.; ALBRECHT, S.; SMITH, J. L. Microbial activity affected by lime in a long-term no-till soil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 88, n. 1–2, p. 123–131, 2006.

GALDOS, M. V.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, n. 3–4, p. 347–352, 2009.

GALHARTE, C. A.; VILLELA, J. M.; CRESTANA, S. Estimativa da produção de sedimentos em função da mudança de uso e cobertura do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 2, p. 194–201, 2014.

GILBERT, N. One-third of our greenhouse gas emissions come from agriculture. **Nature**, London, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/doi:10.1038/nature.2012.11708>>.

GILLER, K. E.; BEARE, M. H.; LAVELLE, P.; IZAC, A.-M. N.; SWIFT, M. J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 3–16, 1997.

GRAF, A.; PROLINGHEUER, N.; SCHICKLING, A.; SCHMIDT, M.; SCHNEIDER, K.; SCHÜTTEMEYER, D.; HERBST, M.; HUISMAN, J. A.; WEIHERMÜLLER, L.; SCHARNAGL, B.; STEENPASS, C.; HARMS, R.; VEREECKEN, H. Temporal downscaling of soil CO₂ efflux measurements based on time-stable patterns. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 10, n. 1, p. 239–251, 2010.

GUEDES, A. C. T. P. **Atividade biológica e enzimática em solo tratado com Cloreto e Sulfato de Bário**. 2013. 79 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

GU, Y.; WAG, P.; KONG, C. Urease, invertase, dehydrogenase and polyphenoloxidase activities in paddy soils influenced by allelopathic rice variety. **European Journal of Soil Biology**, Issy les Moulineaux, 45, n. 5–6, p. 436–441, 2009.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 688 p.

HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington-DC, v. 68, n. 4, p. 669–685, 2004.

HAYDEN, H. L.; DRAKE, J.; IMHOF, M.; OXLEY, A. P. A.; NORNG, S.; MELE, P. M. The abundance of nitrogen cycle genes *amoA* and *nifH* depends on land-uses and soil types in South-Eastern Australia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 10, p. 1774–1783, 2010.

HERBST, M.; PROLINGHEUER, N.; GRAF, A.; HUISMAN, J. A.; WEIHERMÜLLER, L.; VANDEBORGH, J. Characterization and understanding of bare soil respiration spatial variability at plot scale. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 8, n. 3, p. 762–771, 2009.

HERBST, M.; BORNEMANN, L.; GRAF, A.; VEREECKEN, H.; AMELUNG, W. A geostatistical approach to the field-scale pattern of heterotrophic soil CO₂ emission using covariates. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 111, n. 1, p. 377–392, 2012.

HIGUCHI R.; FOCKLER, C.; DOLLINGER, G.; WATSON, R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. **Biotechnology**, New York, v. 11, n. 9, p. 1026–1030, 1993.

HIRANO, S. S.; UPPER, C. D. Ecology and epidemiology of foliar bacterial plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 21, p. 243–269, 1983.

HOOPER, D. U.; BIGNELL, D. E.; BROWN, V. K.; BRUSSAARD, L.; DANGERFIELD, J. M.; WALL, D. H.; WARDLE, D. A.; COLEMAN, D. C.; GILLER, K. E.; LAVELLE, P.; VAN DER PUTTEN, W. H.; RUITER, P. C.; RUSEK, J.; SILVER, W.; TIEDJE, J. M.; WOLTERS, V. Interactions between above- and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks. **BioScience**, Cary, v. 50, n. 12, p. 1049–1061, 2000.

HORNER-DEVINE, M. C.; LEIBOLD, M. A.; SMITH, V. H.; BOHANNAN, B. J. M. Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. **Ecology Letters**, West Sussex, v. 6, n. 7, p. 613–622, 2003.

HU, W.; SHAO, M.; HAN, F.; REICHARDT, K. Spatio-temporal variability behavior of land surface soil water content in shrub- and grass-land. **Geoderma**, Amsterdam, v. 162, n. 3–4, p. 260–272, 2011.

IAMAGUTI, J. L.; MOITINHO, M. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; BICALHO, E. D. S.; PANOSSO, A. R.; LA SCALA, N. Preparo do solo e emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo em área canavieira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 5, p. 497–504, 2015.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate Change 2007: Mitigation**. Contribution of Working Group III. Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom and New York, 2007.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate Change 2013: Mitigation**. Contribution of Working Group III. Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom and New York, 2014.

JENG, R. S.; SVIRCEV, A. M.; MYERS, A. L.; BELIAEVA, L.; HUNTER, D. M.; HUBBES, M. The use of 16S and 16S-23S rDNA to easily detect and differentiate common Gram-negative orchard epiphytes. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 69–77, 2001.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. (Eds.) **Soil biochemistry**. v. 5. New York: Marcel Decker, 1981. p. 415–471.

JIMÉNEZ-BUENO, N. G.; VALENZUELA-ENCINAS, C.; MARSCH, R.; ORTIZ-GUTIÉRREZ, D.; VERHULST, N.; GOVAERTS, B.; DENDOOVEN, L.; NAVARRO-NOYA, Y. E. Bacterial indicator taxa in soils under different long-term agricultural management. **Journal of Applied Microbiology**, West Sussex, v. 120, n. 4, p. 921–933, 2016.

KAINIEMI, V. **Tillage effects on soil respiration in Swedish Arable soils**. 2014. 68 f. Doctoral Thesis (Doctorate in Soil and Environment) – Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Uppsala, 2014.

KANG, S.; KIM, S.; OH, S.; LEE, D. Predicting spatial and temporal patterns of soil temperature based on topography, surface cover, and air temperature. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 136, n. 1–3, p. 173–184, 2000.

KARHU, K.; AUFFRET, M. D.; DUNGAIT, J. A. J.; HOPKINS, D. W.; PROSSER, J. I.; SINGH, B. K.; SUBKE, J.; WOOKEY, P. A.; ÅGREN, G. I.; SEBASTIA, M.; GOURIVEAU, F.; BERGKVIST, G.; MEIR, P.; NOTTINGHAM, A. T.; SALINAS, N.; HARTLEY, I. P. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. **Nature**, London, v. 513, p. 81–84, 2014.

KONCZ, P.; BALOGH, J.; PAPP, M.; HIDY, D.; PINTÉR, K.; FÓTI, S.; KLUMPP, K.; NAGY, Z. Higher soil respiration under mowing than under grazing explained by biomass differences. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 103, n. 2, p. 201–215, 2015.

KONDA, R.; OHTA, S.; ISHIZUKA, S.; HERIYANTO, J.; WICAKSONO, A. Seasonal changes in the spatial structures of N₂O, CO₂, and CH₄ fluxes from *Acacia mangium* plantation soils in Indonesia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 9, p. 1512–1522, 2010.

KUZYAKOV, Y. Sources of CO₂ efflux from soil and review of partitioning methods. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 425–448, 2006.

LAL, R. Challenges and opportunities in soil organic matter research. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 158–169, 2009.

LANE, D.; PACE, B.; OLSEN, G.; STAHL, D.; SOGIN, M., PACE, N. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington-DC, v. 82, n. 20, p. 6955–6959, 1985.

LA SCALA, N.; BOLONHEZI, D.; PEREIRA, G. T. Short-term soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage of a no-till sugar cane area in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, n. 1–2, p. 244–248, 2006.

LA SCALA, N.; FIGUEIREDO, E. B.; PANOSSO, A. R. A review on soil carbon accumulation due to the management change of major Brazilian agricultural activities. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 72, n. 3, p. 1–11, 2012.

LA SCALA, N.; MARQUES Jr., J.; PEREIRA, G. T.; CORÁ, J. E. Short-term temporal changes in the spatial variability model of CO₂ emissions from a Brazilian bare soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 10, p. 1459–1462, 2000.

LA SCALA, N.; MENDONÇA, E. S.; SOUZA, J. V.; PANOSSO, A. R.; SIMAS, F. N. B.; SCHAEFER, C. E. G. R. Spatial and temporal variability in soil CO₂–C emissions and relation to soil temperature at King George Island, maritime Antarctica. **Polar Science**, Amsterdam, v. 4, n. 3, p. 479–487, 2010.

LAUBER, C. L.; RANIREZ, K.; AANDERUD, Z.; LENNON, J.; FIERER, N. Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. **The ISME Journal**, London, v. 7, n. 8, p. 1641–1650, 2013.

LIMA, M. A.; LIGO, M. A.; CABRAL, M. R.; BOEIRA, R. C.; PESSOA, M. C. P. Y.; NEVES, M. C. **Emissão de gases do efeito estufa provenientes da queima de resíduos agrícolas no Brasil**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 60 p. (Embrapa Meio Ambiente – Documentos, 7).

LONGDOZ, B.; YERNAUX, M.; AUBINET, M. Soil CO₂ efflux measurements in a mixed forest: impact of chamber disturbances, spatial variability and seasonal evolution. **Global Change Biology**, West Sussex, v. 6, n. 1, p. 907–917, 2000.

LUESKEN, F. A.; ZHU, B.; VAN ALLEN, T. A.; BUTLER, M. K.; RODRIGUEZ DIAZ, M.; SONG, B.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M.; ETTWIG, K. F. pmoA primers for detection of anaerobic methanotrophs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 77, n. 11, p. 3877–3880, 2011.

MACDONALD, C. A.; CRAWLEY, M. J.; WRIGHT, D. J.; KUCZYNSKI, J.; ROBINSON, L.; KNIGHT, R.; AL-SOUD, W. A.; SØRENSEN, S. J.; DENG, Y.; ZHOU, J.; SINGH, B. K. Identifying qualitative effects of different grazing types on below-ground communities and function in a long-term field experiment. **Environmental Microbiology**, West Sussex, v. 17, n. 3, p. 841–854, 2014.

MARCELO, A. V.; CORA, J. E.; LA SCALA, N. Influence of liming on residual soil respiration and chemical properties in a tropical no-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 45–50, 2012.

MARQUES, T. C. L. S. M.; VASCONCELLOS, C. A.; FILHO, I. P.; FRANÇA, G. E.; CRUZ, J. C. Evolvimento de dióxido de carbono e mineralização do nitrogênio em Latossolo vermelho-escuro com diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 581–589, 2000.

MOITINHO, M. R.; PADOVAN, M. P.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; FERRAUDO, A. S.; LA SCALA, N. On the spatial and temporal dependence of CO₂ emission on soil properties in sugarcane (*Saccharum* spp.) production. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 148, p. 127–132, 2015.

MONTANARI, R.; CARVALHO, M. P.; ANDREOTTI, M.; DALCHIAVON, F. C.; LOVERA, L. H.; HONORATO, M. A. O. Aspectos da produtividade do feijão correlacionados com atributos físicos do solo sob elevado nível tecnológico de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1811–1822, 2010.

MOYANO, F. E.; VASILYEVA, N.; BOUCKAERT, L.; COOK, F.; CRAINE, J.; CURIEL YUSTE, J.; DON, A.; EPRON, D.; FORMANEK, P.; FRANZLUEBBERS, A.; ILSTEDT, U.; KÄTTERER, T.; ORCHARD, V.; REICHSTEIN, M.; REY, A.; RUAMPS, L.; SUBKE, J. A.; THOMSEN, I. K.; CHENU, C. The moisture response of soil heterotrophic respiration: interaction with soil properties. **Biogeosciences**, Goettingen, v. 9, n. 3, p. 1173–1182, 2012.

MUYZER, G.; WALL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S r RNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 59, n. 3, p. 695–700, 1998.

NAVARRETE, A. A.; SOARES, T.; ROSSETTO, R.; VAN VEEN, J. A.; TSAI, S. M.; KURAMAE, E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 108, n. 3, p. 741–752, 2015.

NUNES Jr., D.; GONÇALVES, J. L.; SILVA Jr., A. C.; NAGUMO, M.; D'ARAGONE, R. B. **Indicadores de desempenho da agroindústria canavieira** – safras 2012/13 e 2013/14. Ribeirão Preto: IDEA – Instituto de Desenvolvimento Agroindustrial, 2014. 155 p.

ONSORI, H.; ZAMANI, M. R.; MOTALLEBI, M.; ZARGHAMI, N. Identification of over producer strain of endo- β -1.4-glucanase in *Aspergillus* Species: Characterization of crude carboxymethyl cellulase. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4, n. 1, p. 26–30, 2005.

OYAMA, M. D.; NOBRE, C. A. A new climate-vegetation equilibrium state for tropical South America. **Geophysical Research Letters**, Hoboken, v. 30, n. 23, p. 2199, 2003.

PANCHOLY, K. S.; RICE, E. L. Soil enzymes in relation to old field succession. Amylase, cellulase, invertase, dehydrogenase and urease. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 37, n. 1, p. 47–50, 1973.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr., J.; MILORI, D. M. B. P.; FERRAUDO, A. S.; BARBIERI, D. M.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Soil CO₂ emission and its relation to soil properties in sugarcane areas under Slash-and-burn and Green harvest. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 111, n. 2, p. 190–196, 2011.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr. J.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial and temporal variability of soil CO₂ emission in a sugarcane area under green and slash-and-burn managements. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 275–282, 2009.

PARKIN, T. B. Spatial variability of microbial processes in soil – a review. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 22, n. 3, p. 409–417, 1993.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; YEOH, Y. K.; KASINADHUNI, N. R. P.; LONHIENNE, T.; ROBINSON, N.; HUGENHOLTZ, P.; RAGAN, M.; SCHMIDT, S. Nitrogen fertiliser dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific Reports** **5**, London, n. 8678, 2015.

PBMC – Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. **Mudanças ambientais de curto e longo prazo: projeções, reversibilidade e atribuição**. Capítulo 9. 2014. Disponível em: <http://www.pbmc.coppe.ufrj.br/documentos_publicos/GT1/GT1_volume_completo_cap9.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2016.

PESSOA FILHO, M. A. C. P. **Metanogenômica e sua aplicação no estudo de diversidade e função de microorganismos de solos do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010. 29 p.

PIVETTA, M. Extremos do clima. **Revista Pesquisa FAPESP (online)**, São Paulo, v. 16, n. 21, 2013. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2013/08/13/extremos-do-clima/>>. Acesso em: 28 abr. 2016.

PORTER, J. R.; XIE, L.; CHALLINOR, A. J.; COCHRANE, K.; HOWDEN, S. M.; IQBAL, M. M.; LOBELL, D. B.; TRAVASSO, M. I. 2014: Food security and food production systems. In: **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [FIELD, C. B.; BARROS, V. R.; DOKKEN, D. J.; MACH, K. J.; MASTRANDREA, M. D.; BILIR, T. E.; CHATTERJEE, M.; EBI, K. L.; ESTRADA, Y. O.; GENOVA, R. C.; GIRMA, B.; KISSEL, E. S.; LEVY, A. N.; MACCRACKEN, S.; MASTRANDREA, P. R.; WHITE, L. L. (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2014. p. 485–533.

RAYMOND, J.; SIEFERT, J. L.; STAPLES, C. R.; BLANKENSHIP, R. E. The natural history of nitrogen fixation. **Molecular Biology and Evolution**, Cary, v. 21, n. 3, p. 541–554, 2004.

RAZAFIMBELO, T.; BARTHÈS, B.; LARRE´-LARROUY, M. C.; DE LUCA, E. F.; LAURENT, J. Y.; CERRI, C. C.; FELLER, C. Effect of sugarcane residue management (mulching versus burning) on organic matter in a clayey Oxisol from southern Brazil. **Agriculture Ecosystems Environment**, Amsterdam, v. 115, n. 1–4, p. 285–289, 2006.

RECOUS, S.; AITA, C.; MARY, B. In situ changes in gross N transformations in bare soil after addition of straw. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 119–133, 1999.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; DE OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugarcane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 281, n. 1, p. 339–351, 2006.

RETH, S.; REICHSTEIN, M.; FALGE, E. The effect of soil water content, soil temperature, soil pH- value and the root mass on soil CO₂ efflux – a modified model. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 268, n. 1, p. 21–33, 2005.

RONQUIM, C. C. **Dinâmica espaço temporal do carbono aprisionado na fitomassa dos agroecossistemas no nordeste do Estado de São Paulo**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2007, 52 p.

SALAZAR, L. F.; NOBRE, C. A.; OYAMA, M. D. 2007: Climate change consequences on the biome distribution in tropical South America. **Geophysical Research Letters**, Hoboken, v. 34, L09708, 2007.

SALAZAR, S.; SÁNCHEZ, L. E.; ALVAREZ, J.; VALVERDE, A.; GALINDO, P.; IGUAL, J. M.; PEIX, A.; SANTA-REGINA, I. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 37, n. 8, p. 1123–1131, 2011.

SANOMIYA, L. T.; NAHAS, E. Atividade enzimática do solo influenciada pela espécie de planta, adubação fosfatada e calagem. **Científica**, Jaboticabal, v.32, n. 1, p. 75–81, 2004.

SAMBORSKA, A.; STEPNIEWSKA, Z.; STEPNIEWSKI, W. Influence of different oxidation states of chromium (VI, III) on soil urease activity. **Geoderma**, Amsterdam, v. 122, n. 2–4, p. 317–322, 2004.

SÃO PAULO (Estado). **Lei Estadual no. 11.241/2002**: Dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana-de-açúcar e dá providências correlatas. 2002. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/lei/2002/lei-11241-19.09.2002.html>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

SAVVA, Y.; SZLAVECZ, K.; CARLSON, D.; GUPCHUP, J.; SZALAY, A.; TERZIS, A. Spatial patterns of soil moisture under forest and grass land cover in a suburban area, in Maryland, USA. **Geoderma**, Amsterdam, v. 192, p. 202–210, 2013.

SCHWENDENMANN, L.; VELDKAMP, E.; BRENES, T.; O'BRIEN, J. J.; MACKENSEN, J. Spatial and temporal variation in soil CO₂ efflux in an old-growth neotropical rain forest, La Selva, Costa Rica. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 64, n. 1, p. 111–128, 2003.

SILVA, L. B. C. **Efeitos do aquecimento e da elevada concentração atmosférica de CO₂ na dinâmica de carbono e nitrogênio do solo e de duas forrageiras tropicais (*Panicum maximum* e *Stylosanthes capitata*)**. 2014. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

SILVA, E. D. F.; MOITINHO, M. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Emissão de CO₂ do solo associada à calagem em área de conversão de laranja para cana-de-açúcar. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 34, n. 5, p. 885–898, 2014.

SILVA-OLAYA, A. M.; CERRI, C. E. P.; LA SCALA, N.; DIAS, C. T. S.; CERRI, C. C. Carbon dioxide emissions under different soil tillage systems in mechanically harvested sugarcane. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2013.

SIX, J.; CONANT, R. T.; PAUL, E. A.; PAUSTIAN, K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 241, n. 2, p. 155–176, 2002.

SIX, J.; FREY, S. D.; THIES, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 70, n. 2, p. 555–569, 2006.

SMART, D. R.; PEÑUELAS, J. Short-term CO₂ emissions from planted soil subject to elevated CO₂ and simulated precipitation. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam v. 28, n. 3, p. 247–57, 2005.

SMITH, C. J.; OSBORN, A. M. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 67, n. 1, p. 6–20, 2009.

SMITH, P.; BUSTAMANTE, M.; AHAMMAD, H.; CLARK, H.; DONG, H.; ELSIDDIG, E. A.; HABERL, H.; HARPER, R.; HOUSE, J.; JAFARI, M.; MASERA, O.; MBOW, C.; RAVINDRANATH, N. H.; RICE, C. W.; ABAD, C. R.; ROMANOVSKAYA, A.; SPERLING, F.; TUBIELLO, F. N.; BOLWIG, S. Agriculture, forestry and other land use (AFOLU). In: **Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change**. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom and New York, 2014. p. 811–922.

SMITH, P.; MARTINO, D.; CAI, Z.; GWARY, D.; JANZEN, H.; KUMAR, P.; MCCARL, B.; OGLE, S.; O'MARA, F.; RICE, C.; SCHOLLES, B.; SIROTENKO, O.; HOWDEN, M.; MCALLISTER, T.; PAN, G.; ROMANENKOV, V.; SCHNEIDER, U.; TOWPRAYOON, S.; WATTENBACH, M.; SMITH, J. Greenhouse gas mitigation in agriculture. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B**, London, v. 363, n. 1492, p. 789–813, 2008.

SOANE, B. D.; BALL, B. C.; ARVIDSSON, J.; BASCH, G.; MORENO, F.; ROGERESTRADE, J. No-till in northern, western and south-western Europe: A review of problems and opportunities for crop production and the environment. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 118, p. 66–87, 2012.

SOARES, M. B. B.; FINOTO, E. L.; BOLONHEZI, D.; CARREGA, W. C.; ALBUQUERQUE, J. A. A.; PIROTTA, M. Z. Fitossociologia de plantas daninhas sob diferentes sistemas de manejo de solo em áreas de reforma de cana crua. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 3, n. 5, p. 173–181, 2011.

SOLLINS, P.; HOMAN, P.; CALDWELL, B. A. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. **Geoderma**, Amsterdam, v. 74, n. 1–2, p. 65–105, 1993.

SOTTA, E. D.; VELDKAMP, E.; GUIMARÃES, B. R.; PAIXÃO, R. K.; RUIVO, M. L. P.; ALMEIDA, S. S. Landscape and climatic controls on spatial and temporal variation in soil CO₂ efflux in an Eastern Amazonian Rainforest, Caxiuana, Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 237, n. 1–3, p. 57–64, 2006.

SOUSA, S. G. A. **Produção e decomposição de serapilheira de uma floresta ombrófila mista aluvial, Rio Barigui, Araucária, PR**. 2003. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

STONE, M.; KAN, J.; PLANTE, A. F. Parent material and vegetation influence bacterial community structure and nitrogen functional genes along deep tropical soil profiles at the Luquillo Critical Zone Observatory. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 80, p. 273–282, 2015.

TAVARES, R. L. M.; FARHATE, C. V. V.; SOUZA, Z. M.; LA SCALA, N.; TORRES, J. L. R.; CAMPOS, M. C. C. Emission of CO₂ and soil microbial activity in sugarcane management systems. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 10, n. 9, p. 975–982, 2015.

TEIXEIRA, D. D. B.; BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; PERILLO, L. I.; IAMAGUTI, J. L.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Uncertainties in the prediction of spatial variability of soil CO₂ emissions and related properties. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1466–1475, 2012.

TEIXEIRA, D. D. B.; PANOSSO, A. R.; CERRI, C. E. P.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Soil CO₂ emission estimated by different interpolation techniques. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 345, n. 1–2, p. 187–194, 2011.

TEIXEIRA, L. G.; LOPES, A.; LA SCALA, N. Temporal variability of soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage described by an exponential decay in time model. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 224–231, 2010.

THORNTON, P. **Recalibrating food production in the developing world: global warming will change more than just the climate**. CCAFS Policy Brief n. 6. CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS), 2012.

TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; BEFORT, B. L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington-DC, v. 108, n. 50, p. 20260–20264, 2011.

TORSVIK, V.; DAAE, F. L.; SANDAA, R. A.; ØVREAS, L. Novel techniques for analyzing microbial diversity in natural and perturbed environments. **Journal of Biotechnology**, Seattle, v. 64, n. 1, p. 53–62, 1998.

TORSVIK, V.; ØVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 240–245, 2002.

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os microrganismos do solo umidade e aeração. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 60–89.

USSIRI, A. N.; LAL, R. Long-term tillage effects on soil carbon storage and carbon dioxide emissions in continuous corn cropping system from an alfisol in Ohio. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 39–47. 2009.

VARELLA, R. F.; BUSTAMANTE, M. M. C.; PINTO, A. S.; KISSELLE, K. W.; SANTOS, R. V.; BURKE, R. A.; ZEPP, R. G.; VIANA, L. T. Soil fluxes of CO₂, CO, NO and N₂O an old pasture and from native savanna in Brazil. **Ecological Applications**, Hoboken, v. 14, n. sp4, p. 221–231, 2004.

VARGAS, V. P.; CANTARELLA, H.; MARTINS, A. A.; SOARES, J. R.; CARMO, J. B.; ANDRADE, C. A. Sugarcane crop residue increases N₂O and CO₂ emissions under high soil moisture conditions. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 16, n. 2, p. 174–179, 2014.

VERMEULEN, S. J.; CAMPBELL, B. M.; INGRAM, J. S. I. Climate change and food systems. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto, v. 37, p. 195–222, 2012.

VICINI, L. **Análise multivariada da teoria à prática**. 2005. 214 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

WALDROP, M. P.; BALSER, T. C.; FIRESTONE, M. K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 13, p. 1837–1846, 2000.

WANG, J.; LIU, Q. Q.; CHEN, R. R.; LIU, W. Z.; SAINJU, U. M. Soil carbon dioxide emissions in response to precipitation frequency in the Loess Plateau, China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 288–295, 2015.

WARDLE, D. A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological Reviews**, Malden, v. 67, n. 3, p. 321–358, 1992.

WU, J.; YU, M.; XU, J.; DU, J.; JI, F.; DONG, F.; LI, X., SHI, J. Impact of transgenic wheat with wheat yellow mosaic virus resistance on microbial community diversity and enzyme activity in rhizosphere soil. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 6, e98394, 2014.

XU, M.; QI, Y. Soil-surface CO₂ efflux and its spatial and temporal variations in a Young ponderosa pine plantation in northern California. **Global Change Biology**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 667–677, 2001.

YANG, L.; LI, T.; LI, F.; LEMCOFF, J. H.; COHEN, S. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 21–26, 2008.

YANG, N.; ZOU, D.; YANG, M.; LIN, Z. Variations in soil microbial biomass carbon and soil dissolved organic carbon in the re-vegetation of hilly slopes with purple soil. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 12, p. e0166536, 2016.

ZHAO, Y.; XU, X.; DARILEK, J. L.; HUANG, B.; SUN, W.; SHI, X. Spatial variability assessment of soil nutrients in an intense agricultural area, a case study of Rugao County in Yangtze River Delta Region, China. **Environmental Geology**, New York, v. 57, n. 5, p. 1089–1102, 2009.

ZHANG, N.; HE, X.; GAO, Y.; LI, Y.; WANG, H.; MA, D.; ZHANG, R.; YANG, S. Pedogenic carbonate and soil dehydrogenase activity in response to soil organic matter in *Artemisia ordosica* community. **Pedosphere**, Amsterdam, v. 20, n. 2, p. 229–235, 2010.

CAPÍTULO 2 – Emissão de CO₂ associada aos atributos do solo em áreas de cana-de-açúcar sob sistemas de colheita crua e queimada

RESUMO – Dentre as estratégias consideradas mais eficientes para a redução das emissões de CO₂ do solo (FCO₂), em áreas agrícolas, destacam-se a adoção de práticas de manejo mais adequadas do solo, visando à maximização do sequestro de carbono no solo. Neste estudo, objetivou-se caracterizar o processo de emissão de CO₂ do solo em áreas de cana-de-açúcar, nos sistemas de colheita mecanizada crua e manual com queima, bem como investigar a relação entre a emissão e os atributos do solo em ambos os sistemas. Para o estudo, foram utilizadas duas áreas adjacentes, apresentando diferentes sistemas de manejo para a colheita da cana-de-açúcar: cana crua (CC) com grande quantidade de resíduos da cultura deixados sobre a superfície do solo após a colheita mecanizada e cana queimada (CQ) com queima do canavial e colheita manual sem resíduo sob a superfície do solo. A FCO₂, a temperatura e a umidade do solo foram avaliadas em 20 pontos amostrais em cada área, sendo determinadas em 9 dias de avaliações, compreendidos em um período total de 28 dias. Posteriormente, foram coletadas amostras de solo, na profundidade de 0-0,20 m para a determinação dos atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo. A abundância dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH* foi determinada por meio da técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Na análise da variabilidade temporal a FCO₂ na área de cana queimada (2,63 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi, em média, 37% superior à emissão na área de cana crua (1,92 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A umidade do solo (Us) foi maior na área de cana crua (25,30%), diferindo ($p < 0,01$) da área de cana queimada (16,02%). Efeito contrário foi observado para a temperatura do solo (Ts), sendo esta 2,5 °C mais elevada na área de cana queimada (21,5 °C), quando comparada à cana crua (19,1 °C). As variações temporais da FCO₂ e Us foram correlacionadas nos manejos de cana crua ($R^2_{\text{adj}} = 0,64$; $p < 0,05$) e cana queimada ($R^2_{\text{adj}} = 0,66$; $p < 0,05$). A análise fatorial indicou que a temperatura, a umidade, a porosidade livre de água, a densidade do solo, a soma de bases e a abundância dos genes funcionais relacionados ao ciclo do carbono (*pmoA*) e nitrogênio (*nifH*) são os atributos do solo mais representativos que ajudaram a caracterizar o processo de emissão de CO₂ nas áreas sob manejo de cana crua e queimada. Em termos conservacionistas, o sistema de colheita da cana crua, quando comparado ao sistema com queima, é um sistema que apresenta grande potencial tanto para estabilizar o carbono no solo, quanto para reduzir a contribuição da agricultura na emissão de gases do efeito estufa, principalmente o CO₂.

Palavras-chave: análise fatorial, atividade enzimática, manejo da cana-de-açúcar, mata nativa, palha, PCR quantitativo em tempo real, respiração do solo

Soil CO₂ emission associated with soil attributes in areas under burned and unburned sugarcane harvesting systems

ABSTRACT – Among the strategies considered most effective in reducing soil CO₂ emission (FCO₂) in agricultural areas are the adoption of more appropriate soil management aiming at maximizing carbon sequestration. This study aimed to characterize soil CO₂ emission process in areas under mechanized unburned and manual burned sugarcane harvesting systems, as well as investigate the relationship between emission and soil attributes in both systems. For the study, two neighboring areas with different management systems were used: an unburned sugarcane (US) area, with large amounts of crop residues left on the soil surface after mechanical harvest, and a burned sugarcane (BS) area, with manual harvest after burning the sugarcane field and without crop residues on the soil surface. FCO₂, soil temperature (Ts), and soil moisture (Ms) were assessed at 20 sampling points in each area with nine assessments over a period of 28 days. Subsequently, soil samples were collected at each point at a depth of 0–0.20 m to determine soil physical, chemical, and microbiological attributes. The abundance of 16S rRNA genes of *Bacteria*, *pmoA*, and *nifH* was determined by quantitative real-time PCR (qPCR) technique. In the temporal variability analysis, FCO₂ in BS area (2.63 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was, on average, 37% higher than the emission measured in US area (1.92 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Ms was higher in US area (25.30%), differing ($p < 0.01$) from BS area (16.02%). An opposite effect was observed for Ts, which presented values 2.5 °C higher in BS area (21.5 °C) when compared to US area (19.1 °C). Temporal variation of FCO₂ and Ms was correlated in US ($R^2_{\text{adj}} = 0.64$; $p < 0.05$) and BS ($R^2_{\text{adj}} = 0.66$; $p < 0.05$). Factor analysis indicated that, temperature, moisture, air-filled pore space, soil bulk density, sum of bases, and abundance of functional genes related to carbon (*pmoA*) and nitrogen (*nifH*) cycles are the most representative soil attributes that helped to characterize CO₂ emission process in US and BS areas. In conservationist terms, US system presents a great potential for stabilizing soil carbon and reducing the agriculture contribution to greenhouse gas emission, mainly CO₂, when compared to BS system.

Keywords: factor analysis, enzymatic activity, sugarcane management, native vegetation, straw, quantitative real-time PCR, soil respiration

2.1 Introdução

No Brasil, a agricultura é apontada como uma grande fonte emissora de CO₂ para a atmosfera, principalmente quando relacionada às mudanças do uso e do manejo do solo (CERRI et al., 2013). O País é o maior produtor mundial da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). A área cultivada que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira, na safra de 2016/17, é estimada em 9.073,7 mil hectares, distribuída em todos os estados produtores, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor, respondendo por 51,7%, com 4.687,6 mil hectares de área plantada (CONAB, 2016).

Portanto, mudanças no sistema de manejo da cana-de-açúcar podem ter um significativo impacto nas emissões de CO₂ oriundas das áreas agrícolas do País.

A queima dos canaviais, previamente à operação de colheita manual da cultura, ainda é uma prática adotada em várias regiões canavieiras do Brasil, com o objetivo de diminuir a quantidade de palha e, desta forma, facilitar as operações de corte e o carregamento mecânico. Entretanto, essa prática causa grandes emissões de gases de efeito estufa (CO₂, N₂O e CH₄) e de partículas nocivas para a atmosfera (LEAL et al., 2013). No Estado de São Paulo, a Lei n. 11.241, de 19/09/2002, regulamentada pelo Decreto Estadual n. 47.700, estipulou um cronograma para a eliminação em 100% da queima nos canaviais, a partir do mesmo ano da criação da Lei, com prazo final em 2021 para áreas mecanizáveis e em 2031 para áreas não mecanizáveis (SÃO PAULO, 2002).

O sistema de colheita mecanizada da cana crua proporciona a deposição de até 15 t ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca dos resíduos sob o solo, o que resultaria no aumento de carbono nas camadas mais superficiais do mesmo (RAZAFIMBELO et al., 2006; CANELLAS et al., 2010; CERRI et al., 2013; CARVALHO et al., 2016).

Desta forma, o carbono que seria emitido imediatamente para a atmosfera durante a queima do canavial, permanece no sistema incorporado ao solo, contribuindo para a mitigação do CO₂ atmosférico e redução da contribuição do setor agrícola para o efeito estufa adicional (GALDOS et al., 2009; CANELLAS et al., 2010).

Vale ressaltar que embora o sistema agrícola possa contribuir para a mitigação do CO₂ atmosférico, os atributos do solo, aliados às condições climáticas coordenam o potencial de emissão de CO₂ dos solos agrícolas.

Sabe-se que dentre os atributos do solo relacionados aos processos de produção e ao transporte do CO₂ do interior do solo à atmosfera, a temperatura e a umidade do solo estão diretamente envolvidas, controlando tais processos em intensidade e frequência (LAL, 2009; KARHU et al., 2014; VARGAS et al., 2014). Na etapa de transporte do gás, além do teor de umidade, a textura e a estrutura do solo apresentam grande influência (BALL, 2013).

Em adição, a emissão de CO₂ do solo em áreas agrícolas resulta das interações entre o clima (USSIRI; LAL, 2009; WANG et al., 2015) e os atributos físicos (CHEN et al., 2010; PANOSSO et al., 2011), químicos (LAL, 2009; MOITINHO et al., 2015) e biológicos do solo (KARHU et al., 2014; ROSENZWEIG et al., 2016), o que torna complexa a caracterização desta, a qual também apresenta grande variabilidade no espaço (PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012; BICALHO et al., 2014) e no tempo (LA SCALA et al., 2009; MOITINHO et al., 2015).

Contudo, a maioria das relações observadas entre a emissão de CO₂ e as condições edafoclimáticas tem como principal contribuinte a atuação da comunidade microbiana do solo (REICH et al., 2006; HAYDEN et., 2010; MACEDO, 2012; XU et al., 2013).

Para um melhor entendimento dos processos ambientais controlados pelas comunidades microbianas, torna-se necessário um estudo detalhado sobre como esses microrganismos influenciam e ao mesmo tempo são influenciados pelo meio ambiente no qual estão inseridos (MUMMEY et al., 2006; COSTA, 2010).

Dentro deste contexto, este estudo baseia-se na hipótese de que a conversão do sistema de colheita de cana queimada para mecanizada de cana crua contribui para reduzir as emissões de CO₂ do solo, uma vez que também afeta as características físicas, químicas e biológicas do solo, alterando a dinâmica da microbiota no processo de decomposição e mineralização da matéria orgânica e incorporação do carbono no solo. Assim, neste estudo, objetivou-se caracterizar o processo de emissão de CO₂ do solo em áreas de cana-de-açúcar nos sistemas de colheita mecanizada crua e queimada, bem como investigar a relação entre a emissão de CO₂ e os atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo em ambos os sistemas, visando fornecer subsídios para a adoção de práticas de manejo mais

conservacionistas, capazes de reduzir a contribuição da agricultura na emissão de gases de efeito estufa.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Caracterização das áreas de estudo

O estudo foi conduzido em áreas agrícolas adjacentes destinadas à produção de cana-de-açúcar por mais de 35 anos. As áreas localizam-se nas coordenadas geográficas de 21°14'S e 48°05'O, no município de Barrinha, Estado de São Paulo, Brasil (Figura 1). O solo das áreas é classificado como Latossolo Vermelho distroférico (SANTOS et al., 2013), apresentando as seguintes texturas na área de cana crua: 677,5 g kg⁻¹; 208,1 g kg⁻¹ e 134,0 g kg⁻¹ de argila, silte e areia, respectivamente, na camada de 0-0,20 m.

O relevo apresenta declividade menor que 0,5%. Segundo a classificação de Thornthwaite, o clima local pode ser definido como B_{1r}B'_{4a}', Tipo Mesotérmico Úmido, com pequena deficiência hídrica, sendo a evapotranspiração de verão menor que 70% da evapotranspiração anual.



Figura 1. Localização das áreas em estudo. Fonte: Google Earth.

A precipitação média anual é de 1.560 mm, concentrada entre os meses de outubro e março, com 22,2 °C de temperatura média anual registrada na região, nos últimos 30 anos.

As áreas apresentam distintos sistemas de manejo da cana-de-açúcar: cana crua (CC) com histórico de oito anos sem queima do canavial, com grande quantidade de resíduos da cultura (em média 13 t ha⁻¹), deixados sobre a superfície do solo após a colheita mecanizada (Figura 2a), e cana queimada (CQ) com histórico de cultivo de cana desde 1992, com queima do canavial e colheita manual (Figura 2b). A vegetação natural era constituída por floresta tropical subcaducifólia.

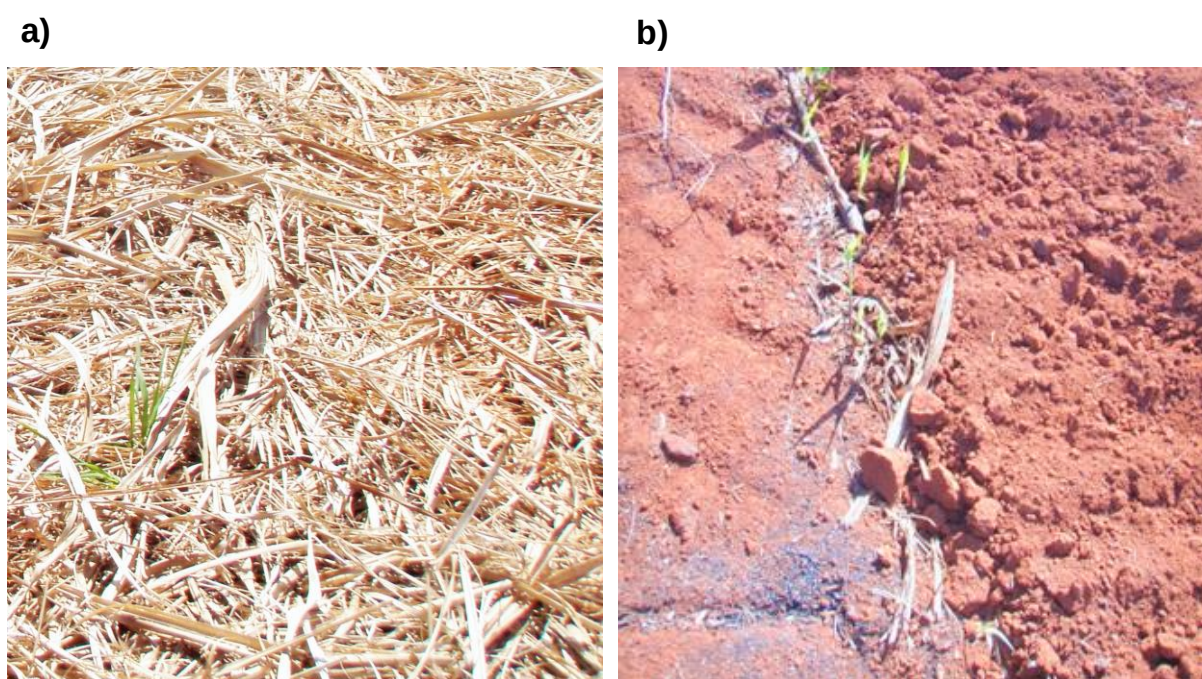


Figura 2. Imagens ilustrativas das diferentes coberturas do solo nas áreas em estudo: cana crua (a) e cana queimada (b).

A colheita da cana-de-açúcar, em ambas as áreas, ocorreu simultaneamente, 1 meses antes do início do experimento (julho de 2013), sendo realizada de forma mecanizada e sem queima na área de cana crua, e manual com queima na área de cana queimada.

As áreas foram renovadas no período compreendido entre janeiro e fevereiro de 2012. Por ocasião da renovação do canavial, foram realizadas as operações de gradagem niveladora intermediária, subsolagem e erradicação química da soqueira. Logo após, foram aplicadas 2,5 t ha⁻¹ de calcário dolomítico com PRNT de 90% e

1,2 t ha⁻¹ de gesso agrícola (CaSO₄) para a correção do solo, em área total sem incorporação dos mesmos. A adubação de plantio foi realizada na sulcação, sendo utilizados 500 kg ha⁻¹ da fórmula 10-25-25, e o plantio realizado de forma manual. Em ambas as áreas, foi aplicado em soqueira, ao longo dos anos, 100 m⁻³ de vinhaça, 300 kg ha⁻¹ de ureia na cana queimada e 200 kg ha⁻¹ de nitrato de amônia na cana crua.

Na cana queimada, o adubo nitrogenado foi incorporado a aproximadamente 0,20 m de profundidade, enquanto na área de cana crua a aplicação foi realizada superficialmente, ao lado da linha de plantio.

2.2.2 Avaliação da emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo

A FCO₂, temperatura (Ts) e umidade do solo (Us) foram avaliadas simultaneamente em 20 pontos amostrais, em cada área (CC e CQ), separados com distância mínima de 10 m. Nestes locais, foram instalados anéis de PVC (com 0,10 m de diâmetro) em cada um dos pontos, à profundidade de 3 cm.

Foram realizadas 9 avaliações, durante o período total de 28 dias (25 e 27 de setembro de 2013 e, 1º; 04; 09; 11; 15; 17 e 22 de outubro de 2013), no período da manhã, das 8 às 10h, sendo realizadas nas fases iniciais do crescimento da cultura da cana-de-açúcar. Utilizando-se da denominação do dia Juliano, as datas das coletas correspondem a 268; 270; 274; 277; 282; 284; 288; 290 e 295 de 2013.

Para as avaliações da emissão de CO₂ do solo (FCO₂), foi utilizado o sistema portátil LI-COR, modelo LI-8100, que monitora as variações da concentração de CO₂ no interior da câmara de solos, por meio de espectroscopia de absorção óptica, na região espectral do infravermelho. A câmara de solos é um sistema fechado, com volume interno de 854,2 cm³, e área de contato circular de 83,7 cm², sendo acoplada sobre os colares de PVC, que foram previamente inseridos no solo (Figura 3a e 3b). Tal procedimento evita a inserção direta da câmara sobre o solo, uma vez que pode causar distúrbios, ocasionando emissões adicionais de CO₂. A FCO₂ do solo foi avaliada em cada ponto, por um ajuste da concentração de CO₂ do ar dentro da câmara, em função de uma regressão parabólica no tempo após seu fechamento. O modo de medida para a determinação da emissão de CO₂ do solo levou 90 segundos

em cada um dos pontos amostrais, e a concentração de CO_2 dentro da câmara foi determinada a cada 2,5 segundos, aproximadamente.

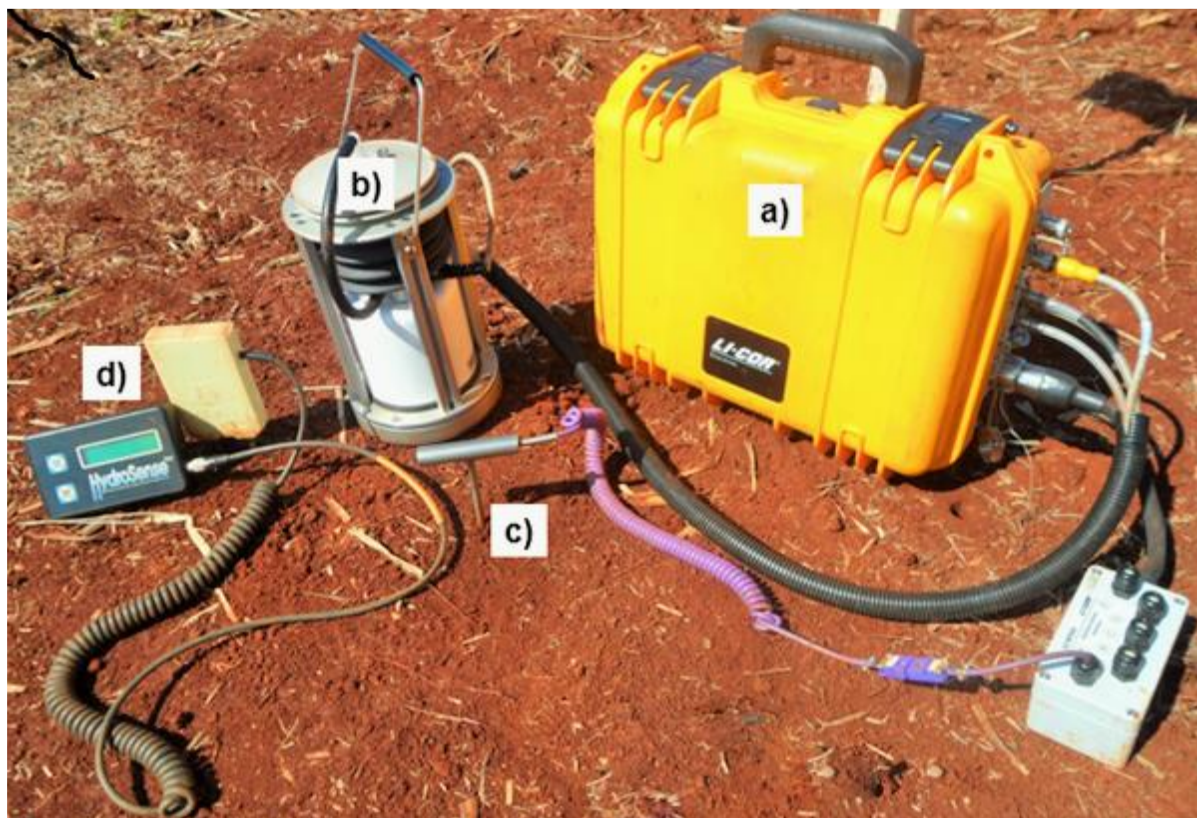


Figura 3. Sistema LI-8100 (a) interligado à câmara de solos (b), sensor de temperatura (c) e umidade do solo (d).

A temperatura do solo (T_s) foi monitorada por meio de um sensor de temperatura integrante do sistema LI-8100 (Figura 3c). Este consiste em uma haste de 0,20 m que é inserida no solo a uma distância de 0,10 m dos pontos de avaliação da FCO_2 . Da mesma forma, a umidade do solo (U_s) foi registrada utilizando-se de um aparelho TDR – Time Domain Reflectometry (Hydrosense TM, Campbell Scientific, Austrália), constituído por uma sonda com duas hastes de 0,12 m, as quais são inseridas no solo, também distanciadas a 0,10 m dos colares de PVC (Figura 3d). O valor da umidade do solo é derivado a partir do tempo que a corrente elétrica leva para percorrer a distância de 32 mm de uma haste à outra.

2.2.3 Determinação dos atributos físicos e químicos do solo

A amostragem do solo foi realizada após o término das avaliações da FCO_2 , Ts e Us. Foram coletadas amostras deformadas e indeformadas, na camada de 0 a 0,20 m de profundidade, próximas a cada ponto amostral, onde a FCO_2 , Ts e Us foram determinadas. Para a análise química, as amostras foram coletadas com um trado tipo holandês, sendo posteriormente secas, destorroadas e peneiradas (peneira de 2 mm). Foram determinados o teor de matéria orgânica do solo (MOS), disponibilidade de fósforo (P) e teores de K, Ca, Mg e H+Al (RAIJ, 2001), soma de bases (SB), saturação por alumínio (m%) e capacidade de troca de cátions do solo (CTC). Para se estimar os valores do carbono orgânico total (COT), os valores da MOS foram divididos por 1,724.

A análise de nitrogênio total do solo foi realizada pelo método de Kjeldahl. Neste método, o N é convertido em sulfato de amônio pela oxidação com uma mistura de CuSO_4 , H_2SO_4 e Na_2SO_4 . Posteriormente, em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia que, em câmara de difusão, é complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto, sendo finalmente determinado por acidimetria (H_2SO_4 ou HCl) (EMBRAPA, 1997).

A análise granulométrica (areia, silte e argila) foi realizada por meio do método proposto pela Embrapa (1997).

A densidade do solo foi determinada a partir de amostras indeformadas, coletadas com amostrador adaptado a cilindros com dimensões de 5 cm de diâmetro interno e 4 cm de altura. O volume total de poros foi calculado com base no valor da densidade, com a distribuição de poros por tamanho determinada por meio de funil de placa porosa sob tensão de 60 cm de altura de coluna d'água em amostras previamente saturadas. O volume de poros retidos na amostra correspondeu aos microporos, e a diferença calculada entre o volume total de poros e os microporos foi correspondente aos macroporos (EMBRAPA, 1997). A porosidade livre de água (PLA) foi calculada pela diferença entre a fração da porosidade preenchida por água, determinada pela Us, e o volume total de poros (VTP) (PANOSSO et al., 2011; BICALHO et al., 2014).

O estoque de carbono corrigido foi calculado com base na massa de solo equivalente (VELDKAMP, 1994; CARVALHO et al., 2009), levando-se em conta as

diferenças nas massas de solo. Por esse método a correção é feita para cada camada estudada, corrigindo-se a espessura da mesma em relação à área de referência, no caso deste estudo a densidade de referência foi a área de cana queimada.

$$\text{EstC} = (\text{CO} \times \text{Ds} \times (\text{Dref}/\text{Ds} \times \text{E})/10 \quad (\text{eq. 1})$$

Sendo, EstC = estoque de carbono (Mg ha^{-1}), CO = teor de carbono orgânico (g kg^{-1}), Ds = densidade do solo (Mg m^{-3}), Dref = densidade do solo para profundidade amostrada na área de referência e E = espessura da camada estudada de 0,20 m.

O potencial de estabilidade do carbono no solo, nas áreas de cana crua e cana queimada, foi obtido por meio dos seguintes cálculos:

$$k = \text{C-CO}_2/\text{EstC} \quad (\text{eq. 2})$$

Sendo, k = constante de decaimento, C-CO₂ = carbono lábil emitido para a atmosfera na forma de CO₂ e EstC = estoque de carbono do solo.

A partir da constante k , estimou-se o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do carbono (eq. 2), ou seja, o tempo necessário para que 50% do C-CO₂ sejam decompostos.

$$t_{1/2} = 1/k \times \ln(2) \quad (\text{eq. 3})$$

Sendo, $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida do carbono, k = constante de decaimento e $\ln(2)$ = logaritmo natural de 2.

2.2.4 PCR quantitativo em Tempo Real

2.2.4.1 Extração de DNA das amostras ambientais

Amostras de solo foram coletadas em 9 pontos demarcados em cada área experimental. As coletas foram realizadas com o auxílio de tubos de PVC previamente esterilizados, de 50 cm de comprimento por 5 cm de diâmetro, sendo introduzidos de forma vertical no solo. Posteriormente, os tubos foram vedados para evitar perda das amostras, armazenados em caixas térmicas com gelo e rapidamente enviados para o

Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP.

No Laboratório as amostras foram armazenadas em ultra-freezer a -80 °C até serem utilizadas para a extração do DNA genômico do solo.

O DNA genômico do solo coletado em cada sistema de manejo foi extraído usando o kit FastDNA® SPIN Kit for Soil, seguindo as instruções do fabricante, e armazenado a -20 °C até o uso. Para confirmar a qualidade da extração de DNA, uma alíquota de 5 µl foi submetido a eletroforese em gel de agarose 1% (p/v) corado em GelRed™ (Uniscience) em tampão SB (BRODY et al., 2004). Como padrão molecular foi utilizado 2 µl de *Low Mass DNA Ladder* (Invitrogen). O gel foi submetido a um campo elétrico de 85 V por aproximadamente 30 minutos (Figura 4a).

Posteriormente, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro de Nanodrop 2000c (Thermocientific), adotando-se a relação de 1,0 densidade ótica a 260 nm (DO_{260}) como sendo igual a 50 ng de DNA.µl⁻¹ (SAMBROOK; FRITISCH; MANIATS, 1989).

2.2.4.2 Detecção e quantificação dos genes 16S rRNA de *Bactéria*, *pmoA* e *nifH* por PCR quantitativo

As reações de PCR quantitativo foram conduzidas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba-SP, sob a supervisão da Profa Dra Tsai Siu Mui.

As reações foram realizadas no equipamento *StepOne Plus™* Real-Time PCR System (Applied Applied Biosystems) (Figura 4b) para os genes 16S rRNA de *Bactéria*, *pmoA* e *nifH*, no sistema SYBER Green I. As condições estabelecidas para cada gene estão descritas na Tabela 1.

Ao final de cada reação foi incluída uma curva de *Melting* nas seguintes condições 95 °C por 15 s, a temperatura de anelamento do primer por 1 minuto e aumentada gradativamente, com leitura dos dados, a cada 0,7 °C até 95 °C.

As curvas padrão foram obtidas realizando amplificações com o número de cópias do DNA molde de *Pseudomonas fluorescens* para o gene 16S rRNA de *Bactéria*, DNA de amostra ambiental para o gene *pmoA* e *Bradyrhizobium liaoningensi* para o gene *nifH*.

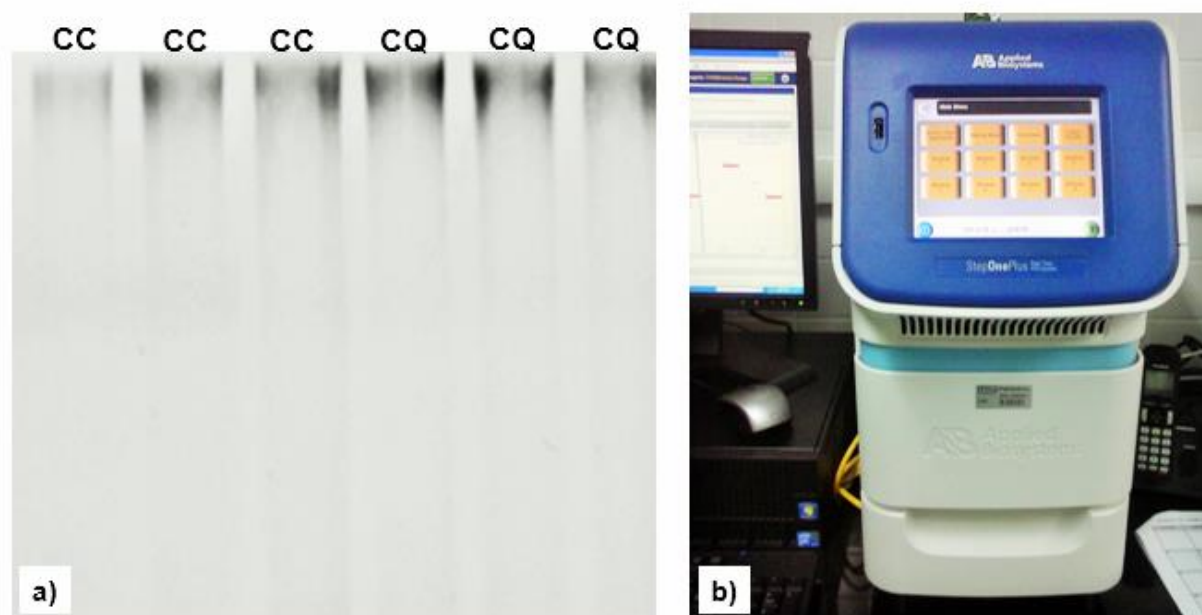


Figura 4. Resultado da eletroforese em gel de agarose após a extração do DNA total do solo usando o kit FastDNA® SPIN Kit for Soil (a), e equipamento StepOne Plus™ Real-Time PCR System (Applied Applied Biosystems) utilizado para as reações de PCR quantitativos nos sistemas: CC = cana crua e CQ = cana queimada.

Tabela 1. Primers utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH*.

Genes alvo	Primers	Sequência (5'- 3')	Tamanho fragmento (pb)	Referência	Condições de Amplificação
16S rRNA <i>Bacteria</i>	Eub 338f Eub 518r	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG ATTACCGCGGCTGCTGG	180	Bakke et al. (2011)	95°C - 10 min; 40 ciclos, 94°C – 15 s, 56°C - 30 s e 72 °C - 45 s
<i>pmoA</i>	A189 f A682 r	GGN GAC TGG GAC TTC TGG GAA SGC NGA GAA GAA SGC	273	Degelmann et al. (2010)	95°C - 05 min; 40 ciclos, 94°C – 20s, 55°C – 01 min s, 72°C – 45s
<i>nifH</i>	<i>nifH</i>	AAA GGY GGW ATC GGY AAR TCC ACC AC TTG TTS GCS GCR TAC ATS GCC ATC AT	457	Wallenstein e Vilgalys (2005)	95°C - 5 min; 40ciclos, 95 °C – 30 s, 59°C - 30 s e 72°C – 1 min e 72° C – 1 min

Os dados obtidos pela amplificação do DNA extraído do solo foram interpolados para determinar o número de cópias dos genes em estudo.

A reação de PCR em Tempo Real, para cada gene, foi preparada em um volume final de 10 µL, contendo 5 µL do SYBR Green ROX qPCR Master Mix (Thermo

Scientific), 5 pmol de cada *primers forward* e *reverse*, 1 µL de DNA da amostra teste e água ultrapura esterilizada.

Os dados do qPCR foram obtidos pelo StepOne Software 2.2.2 (Applied Biosystems), deste foram exportados para o programa Excel (Microsoft) onde foram calculadas as quantidades de cópias do gene para cada grama de solo seco.

2.2.5 Análises Microbiológicas

2.2.5.1 Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

A determinação do carbono da biomassa microbiana foi realizada por meio do método irradiação-extração proposto por Islam e Weil (1998), adaptado por Barbosa (2015). Foram pesados 10 g de solo seco em erlenmeyers de 250 ml, sempre duas amostras, teste e controle correspondentes a cada parcela, uma para ser irradiada e outra não irradiada. A capacidade de retenção de água (CRA) foi ajustada para 100%. Metade das amostras (teste) foram submetidas à irradiação, de acordo com o tempo previamente calculado.

Em seguida, foram acrescentados 40 mL de solução de sulfato de potássio a 0,5 mol L⁻¹ em ambas as amostras, teste e controle, e conduzidas a agitador horizontal a 175 rpm durante 30 minutos. Após agitação, as amostras permaneceram em repouso por mais 30 minutos e foram filtradas em papel filtro qualitativo, recolhendo-se o extrato filtrado. Para determinação, foi pipetado 10 mL de cada extrato filtrado em erlenmeyer de 125 mL, adicionado 2,0 mL de solução de dicromato de potássio a 0,066 mol L⁻¹ e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Aguardou-se esfriar, foi adicionado 50 mL de água destilada, esperou esfriar, e foi acrescentado 4 gotas do indicador ferroin. A titulação foi feita com solução de sulfato ferroso amoniacal. Os valores do carbono presente na biomassa microbiana foram obtidos por meio da equação:

$$C_{Ir, Nlr} = \frac{(V_b - V_{am}) \cdot (\text{concentração sulfato ferroso}) \cdot 3 \cdot 1000 \cdot (\text{vol extrator})}{(\text{vol extrato}) \cdot (\text{peso do solo})} \quad (\text{eq. 4})$$

Sendo, V_b = média do volume gasto na titulação dos brancos, V_{am} = média do volume gasto na titulação das amostras, Volume extrator = 80 mL, volume de K₂ SO₄ 0,5 M utilizado na extração e Volume extrato = 10 mL, volume da alíquota do extrato titulado.

2.2.5.2. Atividade Enzimática da Urease

A atividade enzimática da urease foi determinada segundo McGarity e Myers (1967), pesando-se em tubo de ensaio 18 x 180 mm, teste e controle, 2,0 g de solo seco (< 2 mm), aplicando 0,2 mL de tolueno e deixando-se em repouso por 15 minutos. Foi adicionado tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 6,7 e 1,0 mL de ureia 10% nos tubos testes, seguido teste e controle de incubação em banho maria a 37 °C por 3 horas. Após incubação, foi adicionado aos tubos 3,0mL de água destilada e 1,0 mL de solução ureia a 10% nos tubos controle. Foram agitados e centrifugados a 10.000 rpm durante 10 minutos.

A determinação do NH₄ da atividade enzimática foi realizada pelo método azul indofenol, tomando-se 0,1 mL do sobrenadante em tubo de ensaio 18 x180 mm, acrescido de 2,1 mL de água destilada, com 0,5 mL de solução fenolato (mistura 1: 1: 3 de solução de fenol + NaOH + H₂O), com 0,3 mL de solução de hipoclorito a 0,9% de cloro ativo.

Em seguida os tubos foram agitados, incubados em temperatura ambiente por 1 hora, e a leitura feita em espectrofotômetro a absorvância de 630 nm. O cálculo para os valores de N na forma de NH₄ foram obtidos com o auxílio de curva padrão com 0, 4, 8, 12, 16 e 20 µg tubo⁻¹ de sulfato de amônio.

2.2.5.3 Atividade Enzimática da Desidrogenase

A atividade da desidrogenase no solo foi determinada segundo Casida et al. (1964). Foram pesados 3 g de solo seco (< 2 mm) em tubo de ensaio 18 x 180 mm, adicionado 0,03 g de carbonato de cálcio, 0,5 mL de cloreto de 2,3,5-tripheniltetrazolio (TTC) e 1,3 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada, os tubos vedados com filme plástico PVC e conduzidos a banho maria a 37° C por 24 horas. Após incubação, foi inserido nos tubos de ensaio 10 mL de metanol, agitados, filtrados em papel filtro Whatman 42, sendo transferidos para erlenmeyers de 125 mL, e a intensidade da cor vermelha foi medida em espectrofotômetro com absorvância de 485 nm. As concentrações de trifenilformazan (TPF) formado pela redução do tripheniltetrazolio (TCC) a TPF foram calculadas com auxílio de curva padrão com 0, 5, 10, 20, 30, 40 e 60 µg mL⁻¹ de TPF.

2.2.5.4 Atividade Enzimática da Amilase

A atividade enzimática da amilase foi realizada conforme metodologia de Barbosa (2015), na qual a extração do substrato foi feita pelo método de Cole (1977), posteriormente determinando-se o açúcar redutor pelo método de Somogyi (1952). Pesou-se 2 g de terra fina seca ao ar (TFSA) em tubo de ensaio 18 x 180 mm, acrescentando 0,3 mL de tolueno, deixando em repouso por 15 minutos. Foi adicionado aos tubos de ensaio 5 mL da solução tampão mais substrato composto por 0,1 mL de acetato de sódio contendo 50 mg de amido a pH 5,0, e foi incubado em estufa incubadora para B.O.D modelo 347 F, a 25 °C durante 24 horas. Ao término do período de incubação, foi adicionado aos tubos 10 mL de água destilada, agitados vigorosamente, e a solução formada transferida para tubos de centrifuga, onde foram centrifugados a 12,350 x g, durante 10 minutos.

Pipetou-se 1,0 mL do extrato obtido, em tubo de ensaio 18 x 180 mm, adicionou 1,0 mL de solução cúprica alcalina, e agitou-se vigorosamente. Após agitação, os tubos foram vedados com fita de PVC e incubados em um recipiente com água em ponto de ebulição por 20 minutos. Ao término da incubação, foi adicionado 1,0 mL de reagente arsenomolibdato e 5 mL de água destilada. A leitura da absorbância foi feita a 660 nm e os valores das atividades obtidos com auxílio de curva padrão com 0, 20, 40, 60 e 80 µg de glicose tubo⁻¹.

2.2.5.5 Atividade Enzimática da Celulase

A celulase foi analisada conforme método descrito por Kanazawa e Miyashita (1986). Pesou-se um 1g de solo úmido, teste e controle, foi adicionado 0,2 ml de tolueno e após repouso de 10 min, acrescentado 10 ml de solução tampão acetato a 0,2 mols e pH 5,0, contendo 10 mg de carboximetil celulose apenas nos tubos testes, e nos controles apenas após a incubação a 50 °C por 24 h.

Após o período de incubação, as amostras foram transferidas para tubos de centrífuga, e centrifugadas a 10.000 rpm, durante 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi recolhido, e a concentração de glicose medida em espectrômetro, com comprimento de onda de 660 nm, pelo método dos açúcares redutores de Somogy-Nelson (SOMOGYI,1952).

2.2.6 Processamento e análise de dados

Simultaneamente às análises estatísticas, as pressuposições básicas da análise de variância e regressão, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias foram testadas para todos os atributos avaliados.

Inicialmente, a análise da variância foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, e as observações foram repetidas ao longo do tempo. As comparações das médias diárias da FCO₂, Ts e Us foram realizadas utilizando-se do teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. As análises de variância e de regressão entre estas variáveis foram realizadas, utilizando o programa SAS (SAS versão 9, SAS Institute, Cary, NC, USA).

Já, as diferenças entre as médias dos atributos do solo para os diferentes sistemas de manejo foram testadas pelo teste t de *Student* ($p < 0,01$). A estatística descritiva (média, erro-padrão da média, mínimo, máximo e coeficiente de variação) foi utilizada para a classificação da variabilidade desses atributos.

Os processos que explicaram as interações entre as variáveis medidas (atributos do solo) foram identificados por meio da análise fatorial.

A análise fatorial é uma técnica exploratória multivariada que permite observar relações entre um conjunto de variáveis. Entretanto, quando comparada a análise de componentes principais, a análise de fatores, apresenta suposições mais restritivas e uso apenas de dimensões latentes (variância compartilhada), sendo vista como uma análise teoricamente mais fundamentada (HAIR et al., 2005).

Para a condução da análise fatorial foram selecionados os atributos do solo que não apresentaram colinearidade. Após a seleção e padronização das variáveis (média nula e variância unitária), a análise foi processada no programa Statistica 7.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK, USA).

Dentre as diversas técnicas disponíveis para extrair fatores, utilizou-se a análise de componentes principais, calculada a partir da matriz de correlação entre as variáveis (JEFFERS, 1978). Dos 32 atributos físicos, químicos e microbiológicos avaliados em estudo foram selecionados apenas 12, além do critério de não colinearidade foram selecionados somente os atributos com cargas fatoriais $> 0,70$ em valor absoluto.

O primeiro factor extraído a partir da matriz é a combinação linear das variáveis originais, que representa o máximo de variação contida nas amostras quanto possível. Assim, o primeiro fator pode ser visto como o melhor resumo de relações lineares exibidas nos dados.

O segundo fator é definido como a segunda melhor combinação linear das variáveis, sujeito a restrição de ser ortogonal (independente) ao primeiro fator. Para ser ortogonal ao primeiro fator, o segundo deve ser determinado a partir da variância remanescente após o primeiro fator ter sido extraído. Assim, o segundo fator pode ser definido como a combinação linear das variáveis que explica a maior parte da variância residual depois que o efeito do primeiro fator foi removido dos dados.

Para redistribuir as variâncias foi utilizada a rotação *Varimax* na matriz fatorial, cujo efeito final proporciona um padrão fatorial mais simples e teoricamente mais significativo, uma vez que a rotação é realizada exatamente para redistribuir a variância dos primeiros fatores para os últimos.

Foram considerados os fatores cujo autovalores foram superiores à unidade, conforme o critério estabelecido por Kaiser (1958). Estes autovalores foram determinados fazendo-se um gráfico das raízes latentes em relação ao número de fatores em sua ordem de extração, e a forma da curva resultante foi utilizada para avaliar o ponto de corte (KAISER, 1958). Os coeficientes das funções lineares, que definem as cargas fatoriais foram utilizados na interpretação de seu significado, usando o sinal e o tamanho relativo das cargas como uma indicação do peso a ser atribuído para cada variável.

A análise de variância univariada (ANOVA) foi realizada com os escores dos dois primeiros fatores para testar se há diferença significativa entre os manejos CC e CQ quando definidos os processos oriundos da análise fatorial.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Variação temporal da FCO₂, Ts e Us

A análise de variância de medidas repetidas no tempo para FCO₂ não indicou significância ($F=0,74$; $p=0,6642$) para a interação entre os sistemas de manejo e o tempo (dias de avaliação). Portanto, a FCO₂ apresentou padrão similar de variabilidade temporal para os sistemas CC e CQ. Contudo, houve diferença

significativa quando analisadas isoladamente as emissões em função do manejo ($F=45,58$; $p<0,0001$) e do tempo ($F=9,94$; $p<0,0001$) (Tabela 2).

O manejo CQ apresentou maior emissão média ($2,63 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 37% superior à emissão observada em CC ($1,92 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Entretanto, tanto no manejo CC quanto no CQ, é possível observar valores mais elevados da FCO_2 entre os dias 277 e 284, e uma posterior queda da FCO_2 , que se seguiu até o final do experimento (Tabela 2). Este efeito é mais evidente quando visualizado o comportamento da FCO_2 ao longo dos dias, na Figura 5a.

No dia 274, após a condução das avaliações, houve precipitação de 68 mm após o período de 28 dias sem chuva, sendo o efeito da chuva sobre a FCO_2 observado na avaliação posterior, no dia 277, nos manejos de cana crua ($2,88 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e queimada ($3,98 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Quando comparados estes valores aos observados na avaliação do dia 274 ($1,59$ e $1,92 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), nota-se um aumento de 81% e 107% na FCO_2 , nos manejos de cana crua e queimada, respectivamente.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre os sistemas de manejo e o tempo (dias) para emissão de CO_2 , temperatura e umidade do solo.

Dias Julianos	Emissão de CO_2 do solo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			Temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$)			Umidade do solo (%)		
	CC	CQ	Média	CC	CQ	Média	CC	CQ	Média
268	1,79	2,73	2,26 bc	19,31 Bbc	22,40 Aa	20,86	19,95	10,85	15,4 e
270	1,64	1,83	1,74 c	18,50 Bc	22,00 Aab	20,25	18,80	10,70	14,7 e
274	1,59	1,92	1,75 c	20,34 Ba	22,80 Aa	21,57	20,65	11,50	16,0 de
277	2,88	3,98	3,43 a	18,80 Bc	20,64 Acd	19,72	32,20	23,20	27,7 a
282	2,63	3,24	2,93 ab	18,95 Bbc	20,40 Ad	19,68	31,80	21,35	26,5 a
284	1,97	3,08	2,53 bc	18,68 Bc	21,40 Abc	20,04	30,15	20,35	25,2 a
288	1,61	2,27	1,94 c	18,84 Bc	21,50 Ab	20,17	27,35	16,80	22,0 b
290	1,78	2,46	2,11 bc	19,71 Bab	22,40 Aa	21,06	22,70	13,90	18,30 cd
295	1,46	2,20	1,83 c	18,68 Bc	20,10 Ad	19,39	24,10	15,50	19,8 bc
Média	1,92 B	2,63 A		19,08	21,54		25,3 A	16,0 B	

N = 20. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

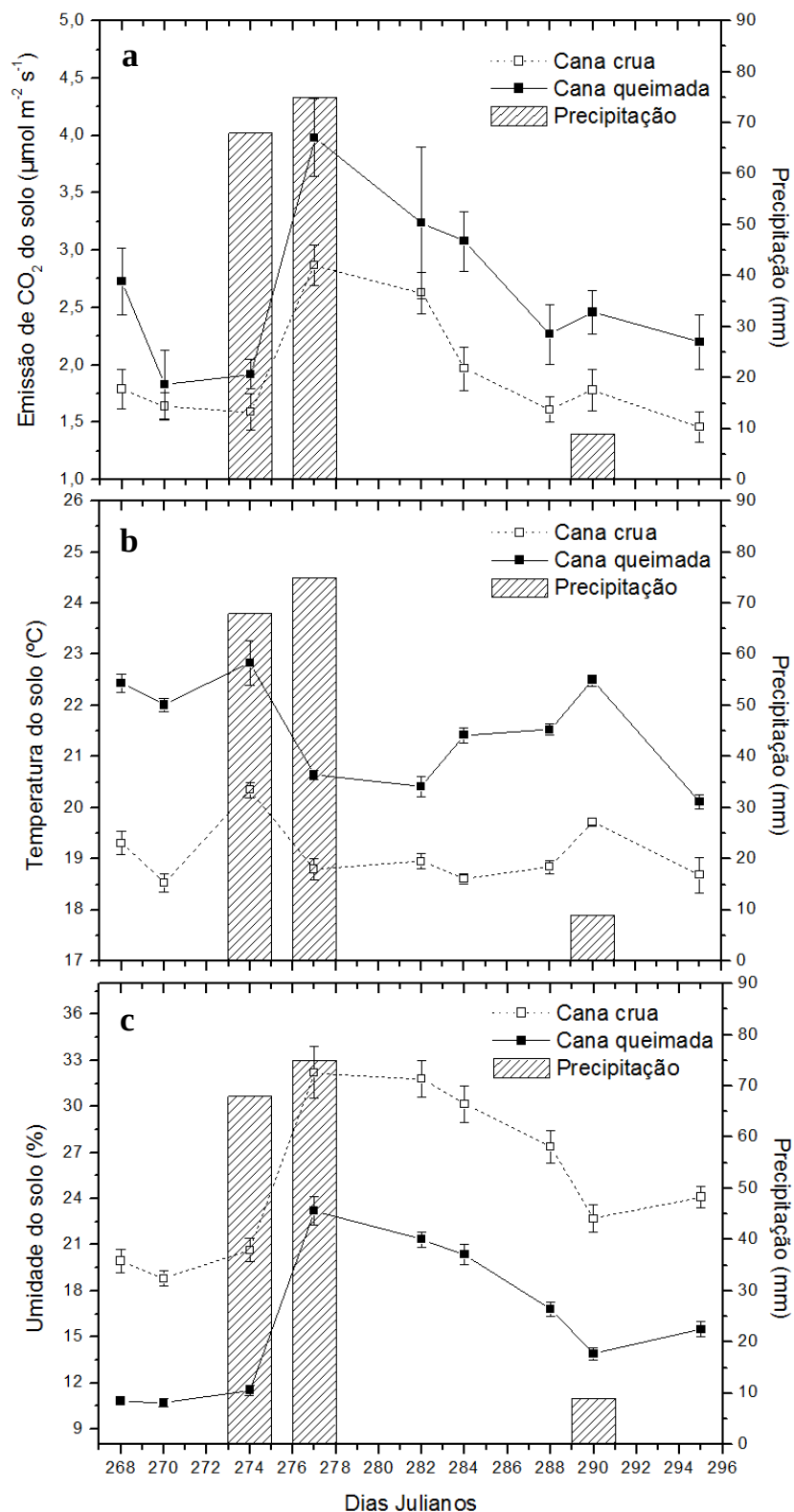


Figura 5. Valores diários médios da emissão de CO₂ (a), temperatura (b) e umidade do solo (c) com barras de erro-padrão da média e precipitações ocorridas durante o período de estudo nos sistemas de manejo de cana crua e cana queimada.

Desta forma, observa-se que o solo sob manejo de cana queimada apresentou maior sensibilidade da FCO₂ ao evento de intensa precipitação. Cabe ressaltar que a avaliação do dia 277 ocorreu 3 dias após a chuva. Em adição, no período da tarde deste mesmo dia (277), houve outro evento de precipitação de 75 mm, o qual, aliado à precipitação anterior, manteve os valores elevados para a FCO₂, observados nas avaliações posteriores conduzidas entre os dias 282 e 284.

Diversos estudos realizados em curtos períodos e também conduzidos em áreas de cana-de-açúcar têm reportado menores valores da FCO₂ em áreas de cana crua (PANOSSO et al., 2011; SILVA-OLAYA et al., 2013; ACRECHE et al., 2014; BICALHO et al., 2014). Os autores atribuem tal resultado principalmente em virtude da cobertura vegetal remanescente após a colheita da cultura e associam a menor emissão aos efeitos desta cobertura sobre a temperatura e a umidade do solo.

As condições climáticas são determinantes na intensidade da FCO₂, promovendo variações diárias na emissão (MOITINHO et al., 2015; WANG et al., 2015), pois alteram a temperatura e a umidade do solo, fatores estes controladores do processo de emissão de CO₂.

A temperatura do solo (Ts) foi a única das variáveis medidas na escala temporal que apresentou efeito significativo para a interação entre os manejos e o tempo ($F=7,14$; $p<0,0001$). Portanto, a Ts não apresentou o mesmo padrão de variabilidade temporal quando os dois sistemas de manejo foram comparados. Semelhantemente à FCO₂, em todos os dias avaliados, os menores valores da Ts foram observados no manejo de cana crua (Tabela 2 e Figura 5b), variando de 18,5 °C (dia 270) a 19,7 °C (dia 290), apresentando assim uma variação média de 1,2 °C ao longo do período. Já no manejo de cana queimada, a Ts variou de 20,1 °C (dia 295) a 22,8 °C (dia 274), apresentando uma variação média de 2,7 °C, indicando o efeito da cobertura do solo sob esta variável.

Dependendo da quantidade e da distribuição da cobertura vegetal no solo, a temperatura da superfície pode ser reduzida em até 4 °C; e, com uma cobertura de aproximadamente 70%, a taxa de evaporação do solo reduz-se para cerca de 25%.

Quando comparada com a temperatura ambiente, a temperatura superficial do solo abaixo da palhada diminui até 5 °C (TOMINAGA et al., 2002). A temperatura do solo apresenta variações diárias e sazonais, com marcada influência nos horizontes

superficiais, ou seja, na região onde se concentra a maior taxa de atividade microbiana (KARHU et al., 2014).

A temperatura do solo é um dos fatores mais importantes no processo de emissão de CO₂, durante e entre os dias, pois seu incremento acelera a decomposição da matéria orgânica, a atividade microbiana e das raízes (SILVA-OLAYA et al., 2013), influenciando, portanto, a FCO₂ que responde de forma exponencial a elevações na temperatura do solo (ACRECHE et al., 2014; KARHU et al., 2014).

A palha na superfície preservou a umidade do solo, conforme observado na Figura 5c, por meio dos mais altos valores observados para Us em CC, quando comparado à CQ, principalmente após as precipitações ocorridas nos dias 277 a 284 e, mantendo-se elevadas até o final do experimento. Embora tenha ocorrido elevações na Us, na área de cana queimada com a ocorrência de chuvas (Figura 5c), a área de cana crua já apresentava valores mais elevados, mesmo antes das precipitações, sendo superiores aos da cana queimada em todos os dias avaliados.

Para a Us, a análise de medidas repetidas no tempo também não indicou interação entre os sistemas de manejo e o tempo ($F=0,52$; $p=0,8461$). Entretanto, foram observados valores significativos quando analisados isoladamente os sistemas de manejo ($F=587,40$; $p<0,0001$) e o tempo de avaliação ($F=73,13$ $p<0,0001$). A Us média foi 58% maior no manejo de cana crua (25,30%), diferindo ($p<0,05$) da cana queimada (16,02%) (Tabela 2).

Durante o experimento, a Us variou de 18,80% a 32,20% nos dias 270 e 277, respectivamente, no manejo de cana crua. Na cana queimada, a variação de Us (menor e maior valores) também ocorreu nestes dias: 270 (10,70%) e 277 (23,20%).

Além do efeito de isolamento térmico promovido pela palha, na redução da temperatura e manutenção do teor de água no solo (USSIRI; LAL, 2009), outra vantagem da cana crua sobre a queimada, provém do fato de que, segundo Primavesi (2006) e Vogelmann et al. (2010), a queima do solo contribui para a formação de substâncias hidrófobas, cujo efeito é maior quanto menor forem as partículas do solo.

Os solos que apresentam estas substâncias orgânicas opõem-se ao reumedecimento, pois possuem forte repelência à água, de modo que estes se tornam mais secos quando comparados aos solos sem adoção das queimadas.

Observando a Figura 5, nota-se, similaridades nos padrões de variabilidade temporal da FCO_2 (Figura 5a), da T_s (Figura 5b) e da U_s (Figura 5c), indicando uma possível relação entre as variáveis. Para testar esta hipótese, foi realizada a análise de regressão (Tabela 3), na qual se constatou que a FCO_2 está associada à U_s , tanto no manejo de cana crua ($R^2_{adj}=0,64$; $p=0,01$) quanto no manejo de cana queimada ($R^2_{adj}=0,66$; $p<0,01$).

Tabela 3. Parâmetros da regressão linear entre a emissão de CO_2 (FCO_2) e umidade do solo (U_s) para ambos os manejos.

Manejos	Regressão linear $FCO_2 = a + b \times U_s$			
	a	b	* R^2	p
Cana crua	0,03±0,54	0,08±0,02	0,64	0,010
Cana queimada	0,66±0,51	0,12±0,03	0,66	0,005

* R^2 ajustado.

Na cana crua, o modelo linear ajustado explicou 64% da variabilidade temporal da FCO_2 , enquanto no manejo de cana queimada o modelo foi capaz de explicar 66% da variabilidade da FCO_2 , indicando que, ao longo do tempo, a FCO_2 foi controlada pela variação do conteúdo de água do solo, sugerindo que a atividade microbiana não foi limitada pela menor aeração do solo durante o período de experimento, em ambos os sistemas de colheita.

Por outro lado, não foram encontrados modelos lineares ou quadráticos significativos ($p>0,05$) entre a FCO_2 e a T_s , para os manejos avaliados, possivelmente devido à baixa variação de T_s ao longo do experimento, conforme pode ser observado pela amplitude de variação (valores mínimo e máximo, e CV) apresentada na Tabela 4.

Além disso, o efeito da T_s sobre a FCO_2 pode ser parcialmente oculto pelo efeito da U_s , uma vez que a umidade e a temperatura do solo são variáveis interdependentes e, comumente, alteram-se simultaneamente (DING et al., 2010).

O teor de umidade presente no solo também é outro fator de suma importância quando da avaliação da FCO_2 . A umidade do solo governa os processos de produção (LAL, 2009), transporte (BALL, 2013) e, conseqüentemente, a emissão de CO_2 do solo para a atmosfera. Dependendo desse teor, tais processos podem ser tanto favorecidos quanto inibidos, uma vez que afetam a atividade microbiana e a difusão

de gases. Esses efeitos são decorrentes principalmente da interação do conteúdo de umidade e do espaço poroso do solo (ORDÓÑEZ-FERNÁNDEZ et al., 2008).

A aeração e a umidade estão inversamente relacionadas pelo movimento de substituição do ar e da água (CHEN et al., 2010). As alterações na constituição do ar do solo governam o crescimento e a atividade da microbiota, uma vez que o CO_2 e o O_2 são necessários ao seu crescimento. Do ponto de vista microbiológico, um solo bem arejado é aquele em que a atividade de oxigenação é máxima (TSAI et al., 1992).

Outros autores também observaram relação positiva entre a emissão de CO_2 e a umidade do solo (PANOSSO et al., 2009; MORELL et al., 2010; VARGAS et al., 2014; WANG et al., 2015).

Entretanto, esses efeitos da umidade sobre a FCO_2 foram mais acentuados quando decorrentes de eventos de precipitação (PANOSSO et al., 2011; WANG et al., 2015) e, principalmente, quando este evento sucedeu um período de seca (MOITINHO et al., 2015).

Durante e até mesmo num curto período após os eventos de precipitação, ocorre a expulsão física do CO_2 dos poros do solo, pelo preenchimento por água (CHEN et al., 2010). Após as precipitações e com o solo ainda encharcado, ocorre diminuição na FCO_2 decorrente de uma camada de proteção (selamento) que a água faz no solo. Contudo, conforme a água vai evaporando-se, a emissão aumenta, pois neste processo os poros do solo não estão mais preenchidos em sua maioria por água; conseqüentemente, o solo vai reestabelecendo sua condição de aeração e favorecendo a atividade aeróbia da microbiota (ZANCHI et al., 2003).

A presença da palha sobre a superfície do solo influencia na relação de causa e efeito entre a FCO_2 e a U_s após os eventos de precipitação, uma vez que, no manejo com palha, a umidade é preservada no solo por tempo superior quando comparada ao manejo sem palha.

Além disso, a presença de palhada sob o solo diminui a taxa de infiltração de água no mesmo, após esses eventos. Desta forma, a perda de CO_2 devido à expulsão física do CO_2 do solo pela água ocorre de forma mais lenta que em solos desprovidos de tal cobertura.

2.3.2 Variação dos atributos do solo em função do manejo: abordagens univariada e multivariada

Os atributos H+Al, Ca, K, SB, CTC, EstC, k , $t_{1/2}$, Densidade, Macro, Micro, VTP e PLA diferiram significativamente ($p < 0,01$) em função dos manejos (Tabela 4).

O sistema de cana queimada apresentou os maiores valores médios dos atributos: H+Al, Ca e SB. De acordo com Campos (2001), muitos dos nutrientes encontrados em maior quantidade na área de cana queimada são oriundos da remineralização da biomassa e da transferência desses nutrientes minerais para a superfície do solo, sob a forma de cinzas, constituídas por óxidos de cálcio, potássio, magnésio e outros elementos minerais. Contudo, segundo o autor, os níveis desses nutrientes decrescem nos anos posteriores, principalmente quando a queima é realizada anualmente.

Em adição, de acordo com Primavesi (2006), além desses aumentos nos teores de potássio e cálcio, ocorre uma diminuição no alumínio trocável, uma vez que a cinza acrescenta especialmente cátions ao solo e poucos ânions que se volatilizam pelo calor do fogo; entretanto, após um a dois anos este aumento desaparece, sendo lixiviados os cátions acrescentados ao solo pelas cinzas.

A capacidade de troca catiônica ($11,82 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e o teor de potássio ($0,90 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) foram significativamente maiores na área de cana crua (Tabela 4). O teor de potássio foi 52% superior neste sistema de manejo quando comparado ao sistema de cana queimada ($0,59 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$).

De acordo com Souza et al. (2012), o material vegetal depositado sobre o solo favorece a maior disponibilidade de nutrientes como o K, sendo também apontado como condicionador do solo e fonte de nutrientes, aumentando assim a capacidade produtiva deste (ROBERTSON; THORBURN, 2001).

Outros autores também verificaram a reciclagem de nutrientes oriunda da decomposição da palha, propiciando principalmente, a liberação de potássio ao solo em áreas de cana-de-açúcar (VITTI et al., 2010; FRANCO et al., 2013). Mendoza et al. (2000) encontraram os maiores valores para CTC no cultivo sem a queima da cana-de-açúcar, já os teores de K foram maiores na área com a queima da cultura.

Tabela 4. Estatísticas descritivas da emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo, constante de decaimento e tempo de meia-vida do carbono no solo, juntamente com os atributos químicos e físicos do solo nos manejos avaliados.

Atributos	Média	EPM	Mínimo	Máximo	CV (%)	Média	EPM	Mínimo	Máximo	CV (%)
Cana crua						Cana queimada				
FCO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹)*	1,92 b	0,06	1,29	2,65	39,06	2,63 a	0,11	1,83	3,40	59,79
Ts (°C)*	19,08 b	0,07	18,56	19,66	5,26	21,54 a	0,09	21,04	22,35	5,91
Us (%)*	25,30 a	0,49	21,89	28,00	26,29	16,02 b	0,37	15,00	17,56	31,30
pH (CaCl ₂)	5,18 a	0,03	4,90	5,40	2,39	5,14 a	0,03	5,00	5,40	2,71
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	4,21 b	0,09	3,40	5,20	10,10	4,75 a	0,15	3,40	5,8	13,71
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,18 a	0,03	0,89	1,52	13,49	1,27 a	0,06	0,97	1,99	19,81
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	4,45 b	0,06	3,91	4,96	6,65	5,20 a	0,07	4,56	5,66	5,75
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,90 a	0,03	0,80	1,27	16,51	0,59 b	0,03	0,35	0,89	24,56
P (mg dm ⁻³)	23,15 a	0,74	19,00	32,00	14,31	25,15 a	1,00	21,00	39,00	17,79
SB (cmol _c dm ⁻³)	6,50 b	0,10	5,23	7,16	6,63	7,05 a	0,08	6,42	7,82	5,06
CTC (cmol _c dm ⁻³)	11,82 a	0,10	9,46	11,65	4,10	10,72 b	0,14	10,49	12,76	5,39
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,02 a	0,02	0,01	0,19	47,21	0,07 a	0,06	0,01	0,13	45,49
V (%)	60,59 a	0,77	53,08	67,03	5,70	59,81 a	0,85	53,07	67,33	6,39
M (%)	0,28 a	0,26	0,01	2,29	42,36	0,63 a	0,39	0,01	3,18	48,67
MO (g dm ⁻³)	33,20 a	0,50	29,00	39,00	7,02	32,15 a	0,42	30,00	37,00	5,70
EstC (Mg ha ⁻¹)	44,54 a	1,71	37,34	65,63	17,13	39,85 b	1,02	30,11	45,07	11,41
k (d ⁻¹)	0,00046 b	0,00	0,00031	0,00060	18,32	0,00070 a	0,00	0,00046	0,0010	21,73
t _{1/2} (d)	1.572,82 a	72,26	1.174,53	2.263,86	20,54	1.033,95 b	44,99	676,98	1.503,55	19,46
Densidade (g cm ⁻³)	1,28 a	0,02	1,14	1,48	6,13	1,11 b	0,02	0,98	1,25	6,93
Macro (%)	11,43 b	1,17	11,70	20,91	45,80	19,88 a	0,83	11,53	26,13	18,62
Micro (%)	39,79 a	0,45	36,03	43,58	5,08	36,42 b	0,51	32,89	40,96	6,22
VTP (%)	51,22 b	0,94	40,11	56,95	8,20	56,31 a	0,41	51,93	59,02	3,26
PLA (%)	26,14 b	1,03	14,45	33,06	17,64	40,29 a	0,45	36,38	43,91	5,01

N = 20, exceto *(N = 180). EPM= erro-padrão da média; Mínimo = valor mínimo observado; Máximo = valor máximo observado; CV(%) = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste t de *Student* (p<0,01). FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; Ts = temperatura do solo; Us = umidade do solo; pH = potencial hidrogeniônico; H+Al = acidez potencial; Mg = teor de magnésio trocável; Ca = teor de cálcio trocável; K = teor de potássio trocável; P = teor de fósforo; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca catiônica; Al = teor de alumínio; V% = saturação por bases; M% = saturação por alumínio; MO = matéria orgânica do solo; EstC = estoque de carbono do solo; k = constante de decaimento do carbono no solo; t_{1/2} = tempo de meia-vida do carbono no solo; Densidade = densidade do solo; Macro = macroporosidade; Micro = microporosidade; VTP = volume total de poros e PLA = porosidade livre de água.

O teor de matéria orgânica não diferiu em função do manejo (Tabela 4). Entretanto, alguns estudos concluem que a queima dos canaviais é uma prática prejudicial à manutenção dos níveis de MO, pois o aporte de matéria orgânica bruta é reduzido, e a queima ainda favorece e acelera o processo de mineralização da MO já existente, o que afeta a estrutura e a estabilidade do solo (RAZAFIMBELO et al., 2006; LUCA et al., 2008; TAVARES FILHO et al., 2010; SOUZA et al., 2012).

Em adição, o estoque de carbono no solo foi 12% superior na cana crua (44,54 Mg ha⁻¹) em relação à cana queimada (39,85 Mg ha⁻¹), diferindo entre os manejos (Tabela 4). Tal fato é amplamente reportado na literatura e está diretamente relacionado ao tempo de adoção do sistema de manejo de cana crua com os resíduos mantidos sobre o solo, e geralmente este aumento é verificado nas camadas mais superficiais do mesmo (RAZAFIMBELO et al., 2006; COSTA et al., 2008; LUCA et al., 2008; GALDOS et al., 2009; CANELLAS et al., 2010; CERRI et al., 2013; PANOSSO et al., 2011; SOUZA et al., 2012; THORBURN et al., 2012; CARVALHO et al., 2016).

De acordo com alguns estudos conduzidos a longo prazo, a manutenção em torno de 15 t ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca dos resíduos da cana-de-açúcar resultaria em acúmulo de carbono nas camadas mais superficiais do solo (RAZAFIMBELO et al., 2006; USSIRI; LAL, 2009; CERRI et al., 2013).

Outros estudos também sustentam que, além dos resíduos de cana-de-açúcar pós-colheita, depositados acima do solo (folhas e topos secos, referidos como palha), os subterrâneos que compreendem o sistema radicular (rizomas e raízes) poderiam contribuir para o aumento nas reservas do carbono orgânico no solo (ANDERSON-TEIXEIRA et al., 2013; CARVALHO et al., 2013, 2017). No estudo de Carvalho et al. (2017), os autores realizaram uma revisão da literatura associada a resultados de modelagem e observaram que embora o sistema radicular possa contribuir para entradas de carbono no solo, os resíduos de cana-de-açúcar acima do solo, foram as principais entradas de C, que superam em média mais de três vezes o potencial de entrada de C pelo sistema radicular.

Contudo, além da avaliação do teor de matéria orgânica e estoque de carbono no solo, é imprescindível mensurar a estabilidade desse carbono nos ecossistemas estudados. No presente estudo, tal estabilidade foi estimada por meio do cálculo da constante de decaimento (k) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do carbono no solo.

Os manejos de cana crua e queimada também apresentaram comportamento distinto em relação à constante de decaimento (k) e o tempo de meia-vida do carbono lábil do solo ($t_{1/2}$). Os valores da constante k indicam que no solo sob manejo da cana queimada ($0,00070\text{ d}^{-1}$), o carbono foi decomposto mais rapidamente quando comparado à cana crua ($0,00046\text{ d}^{-1}$); consequentemente, o tempo de meia-vida do carbono foi maior no manejo de cana crua ($1.572,82\text{ d}$), ou seja, o tempo de permanência do carbono lábil neste sistema foi 52% superior ao observado na cana queimada ($1.033,95\text{ d}$) (Tabela 4).

Luca et al. (2008), em estudo similar, observaram que a decomposição da palha no sistema de cana crua proporcionou aumento no teor e estoque de matéria orgânica do solo. Os autores ainda concluíram que as práticas de manejo neste sistema proporcionam maior estabilidade do carbono, uma vez que, caracteristicamente, envolveram elevadas adições de material orgânico associado ao não revolvimento do solo.

Em adição, de acordo com Souza et al. (2012), a queima do canavial também resulta em maior disponibilidade de C mineralizável, sendo observadas maiores proporções de C recalcitrante em áreas de cana-de-açúcar sem queima.

Portanto, o sistema de cana crua favorece o aumento da estabilidade dos agregados do solo (ROSCOE; BUURMAN, 2003) e, consequentemente, o estoque de carbono (RAZAFIMBELO et al., 2006; GALDOS et al., 2009), devido à maior proteção física da MO no interior destes agregados, dificultando sua decomposição por parte da microbiota do solo (SIX et al., 2006; CANELLAS et al., 2010). Além disso, esse sistema diminui a disponibilidade de O_2 para os processos oxidativos de decomposição (ROBERTSON; THORBURN, 2001; TOMINAGA et al., 2002).

Para os demais atributos químicos do solo: pH, Mg, P, Al, V% e M% não foram observadas diferenças significativas entre manejos empregados para a colheita da cana-de-açúcar (Tabela 5).

Contudo, a estrutura do solo foi influenciada pelos manejos, todos os atributos físicos avaliados neste estudo diferiram em função do sistema de colheita da cana (Tabela 5).

O manejo de cana crua apresentou os maiores valores médios de densidade do solo ($1,28\text{ g cm}^{-3}$) e microporos (39,79%) quando comparado a cana queimada. A

maior densidade e microporosidade, e menores valores de macroporosidade do solo (11,43%) na área de cana crua ocorrem, sobretudo, em função do arranjo natural do solo não mobilizado e pelo próprio sistema de colheita da cana sem queima e mecanizada, no qual ocorre ligeira compactação do solo até a camada de 0-0,20 m de profundidade, ocasionada pelo tráfego de colheitadora e do veículo de transbordo (TOMINAGA et al., 2002; TAVARES FILHO et al., 2010), principalmente quando realizado em solos com textura mais argilosa e com teores elevados de umidade (OLIVEIRA et al., 2010), a exemplo do solo da área de cana crua no presente estudo.

Macro, VTP e PLA foram mais elevados na área de cana queimada, indicando características de área não compactada. Solos com maior proporção de espaço poroso possuem menor densidade (BRADY et al., 2012).

Maiores emissões de CO₂ na área de cana queimada podem estar relacionadas a estas características estruturais do solo, uma vez que a maior aeração com consequente densidade reduzida, observada neste estudo (Tabela 4), interfere diretamente no processo de transporte gasoso no solo, tanto na entrada de oxigênio, necessária à atividade microbiana aeróbia, quanto na saída de CO₂ como subproduto dessa atividade (TEIXEIRA et al., 2012).

Ainda, as trocas gasosas entre o ar do solo e o atmosférico só podem dar-se adequadamente em solos bem drenados, pois o caminho por meio do qual o CO₂ e o O₂ se movem é constituído por poros grandes e contínuos (CAPECHE et al., 2004; BRADY et al., 2012). Desta forma, a exemplo deste estudo, solos com as características da área de cana queimada (maior percentual de macroporos, poros livres de água e que apresentam temperatura mais elevada) podem propiciar condições que favoreçam a respiração aeróbia de macro e microrganismos, pois permitem a entrada de ar no solo em maior quantidade quando comparado a área sob manejo de cana crua.

Em relação a atividade enzimática do solo, não houve diferença entre os manejos de cana crua e queimada para a urease (Figura 6b), amilase (Figura 6c) e celulase (Figura 6d).

Em contrapartida, a atividade da enzima desidrogenase foi significativamente ($p < 0,05$) maior no solo sob manejo da cana crua (29,75 µg TPF g⁻¹ SS 24 h⁻¹) quando comparada a cana queimada (23,65 µg TPF g⁻¹ SS 24 h⁻¹) (Figura 6a).

As enzimas do solo estão ligadas a importantes funções microbianas na ciclagem de nutrientes em ecossistemas. Dentre as diversas enzimas presentes no solo, a atividade enzimática da desidrogenase está associada à atividade metabólica intracelular, portanto, reflete o crescimento microbiano e está intrinsecamente relacionada à fração ativa da comunidade microbiana do solo (TAN; CHANG; KABZEMS, 2008).

Dentre os fatores edáficos que estimulam a atividade da desidrogenase, a umidade do solo é o mais influente (UHLIROVA et al., 2005). A disponibilidade de água afeta fortemente a atividade microbiana do solo, a composição da comunidade e, conseqüentemente, as atividades enzimáticas do solo (GEISSELER et al., 2011).

À medida que os solos ficam secos, diminui a atividade microbiana enzimática (GEISSELER et al., 2011). Já solos com maior teor de umidade podem favorecer o aumento do número de populações bacterianas (SUBHANI et al., 2001). Desta forma, qualquer alteração no número ou na atividade dos microrganismos reflete na biossíntese de enzimas no solo.

Especificamente em relação à desidrogenase, observa-se valores mais elevados dessa em solos que retêm maior umidade e até mesmo em condições de solos encharcados (ZHAO et al., 2010; WEAVER et al., 2012).

Inserido neste contexto, possivelmente o fato da umidade média do solo ser 58% maior no manejo de cana crua (25,30%), quando comparado a cana queimada (16,02%) (Tabela 2), pode explicar a maior atividade enzimática da desidrogenase no solo sob cana crua (Figura 6a).

O carbono associado a biomassa microbiana (CBM) foi 92% maior no manejo de cana crua (25,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo) quando comparado a cana queimada (13,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo) (Figura 6e).

Resultado semelhante foi observado por Souza et al. (2012) em estudo também conduzido em áreas sob diferentes manejos de colheita da cana-de-açúcar, os autores observaram que o CBM foi 102% maior no solo sob cana crua quando comparado a cana queimada. Já em relação ao solo de floresta o valor de CBM foi 222% maior ao encontrado no sistema de cana queimada. Diante desses resultados, os autores concluíram que o CBM pode ser um indicador confiável da qualidade do

solo para monitoramento de solos em diferentes sistemas de colheita de cana-de-açúcar.

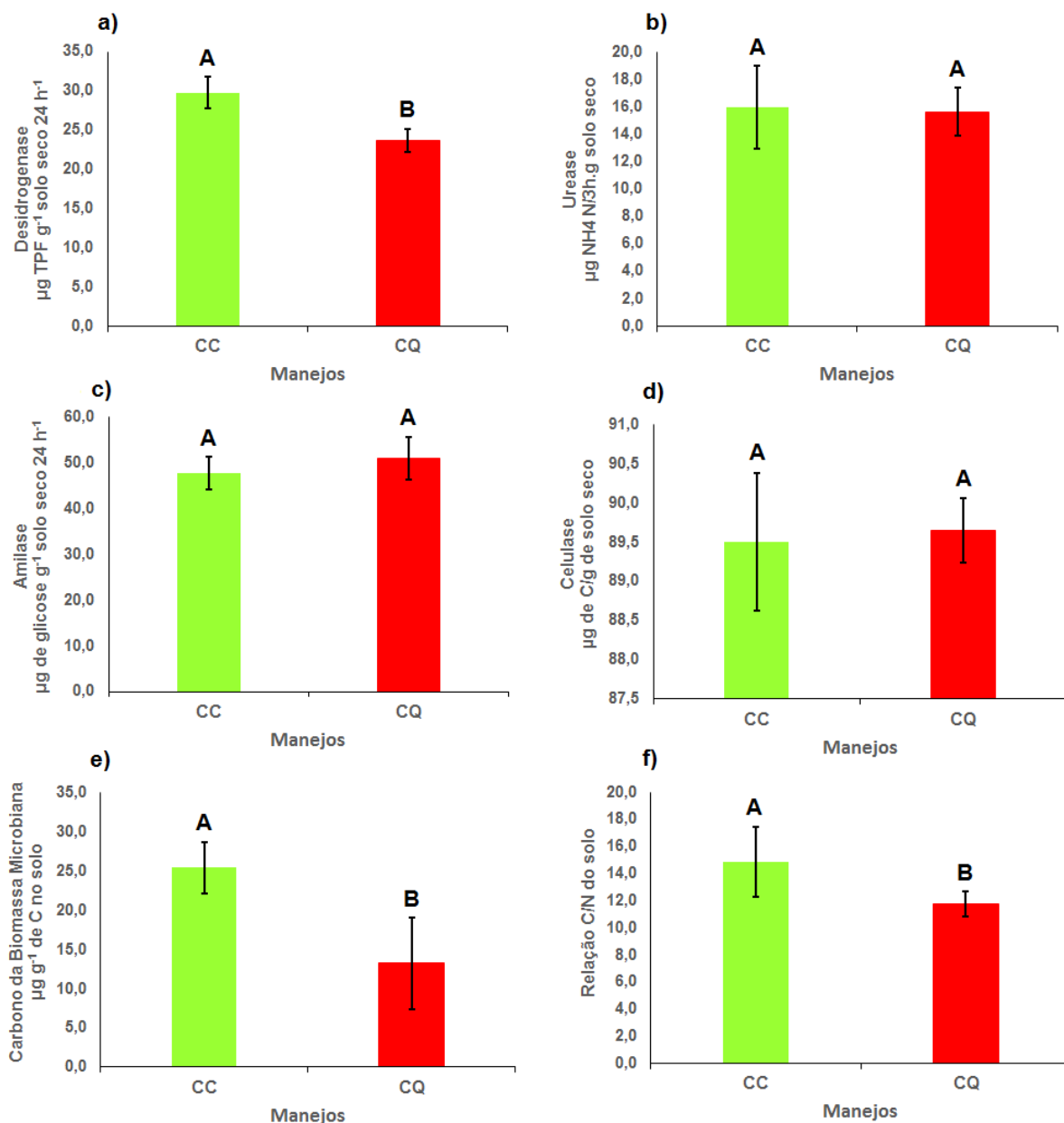


Figura 6. Média $\pm$ erro-padrão da média da atividade enzimática da desidrogenase (a), urease (b), amilase (c) e celulase (d), carbono da biomassa microbiana (e) e relação C/N do solo (f) nos manejos de cana crua (CC) e queimada (CQ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste t de *Student* ($p < 0,01$).

Tavares et al. (2015), avaliando a FCO_2 e a atividade microbiana do solo no sistema de cana queimada (CQ) e dois sistemas de cana crua com histórico de

conversão de 5 (CC-5) e 10 anos (CC-10), observaram diferenças sazonais em relação ao CBM. Os autores relataram que o carbono associado a biomassa microbiana avaliado no inverno não apresentou diferenças significativas quando comparado às três áreas de manejo da cana-de-açúcar. Entretanto, no verão, o CMB foi 6,5 e 5,6% maior na área CC-10 quando comparado com as áreas CQ e CC-5, respectivamente.

Galdos et al. (2009) também verificaram que o CMB foi significativamente maior na área de cana-de-açúcar colhida crua em relação à cana queimada.

A relação C/N do solo (14,8) também foi maior no sistema de cana crua diferindo da cana queimada (11,75) (Figura 6f). Canellas et al. (2003) em estudo conduzido sob Cambissolo avaliando diferentes manejos da cana-de-açúcar também observaram maiores valores da relação C/N no solo manejado com cana crua (10,1) diferindo do solo com queima da cana (8,7), e de acordo com os autores, esses números indicam a presença de matéria orgânica estável.

Diante dos resultados obtidos no presente estudo referente aos maiores valores médios dos atributos: estoque (EstC) e estabilidade do carbono no solo (k e $t_{1/2}$) (Tabela 4), atividade enzimática da desidrogenase (Figura 6a), CBM (Figura 6e) e relação C/N do solo (Figura 6f) e, menor valor médio de emissão de CO₂ (Tabela 2 e Tabela 4) no solo sob manejo de cana crua quando comparado a cana queimada, pode-se inferir que o manejo de cana crua é um ecossistema equilibrado.

De acordo com Lopes et al. (2013), os ecossistemas equilibrados tendem a apresentar menores taxas de respiração do solo, uma vez que a cobertura vegetal do solo, característica desses sistemas, fornece material em diferentes níveis de decomposição e complexidade dos resíduos vegetais, resultando em menores taxas de respiração do solo, sem, contudo, limitar a atividade microbiológica.

Grande parte dos esforços em se descrever as relações entre as emissões/concentrações de CO₂ na atmosfera e as comunidades microbianas do solo têm sido focados na composição filogenética dessas comunidades (BALSER et al., 2005; DRIGO et al., 2008; LESAULNIER et al., 2008; MACEDO et al., 2012).

No entanto, estudos sobre a caracterização da diversidade funcional da comunidade microbiana mediando processos biogeoquímicos importantes, tais como a ciclagem de carbono e nitrogênio no solo ainda são escassos (XU et al., 2013).

Desta forma, com a quantificação do gene 16S de *Bacteria* é possível estimar o número total da comunidade microbiana do solo, e a partir dos genes *pmoA* e *nifH* estimar os microrganismos que atuam diretamente nos ciclos biogeoquímicos do carbono e nitrogênio, respectivamente, como agente biodegradadores.

Entretanto no presente estudo, dentre esses genes, somente para o número de cópias do gene *nifH* observou-se diferença quando comparados os manejos de cana crua (434 g⁻¹ de solo) e cana queimada (4.436,67 g⁻¹ de solo) (Figura 7c).

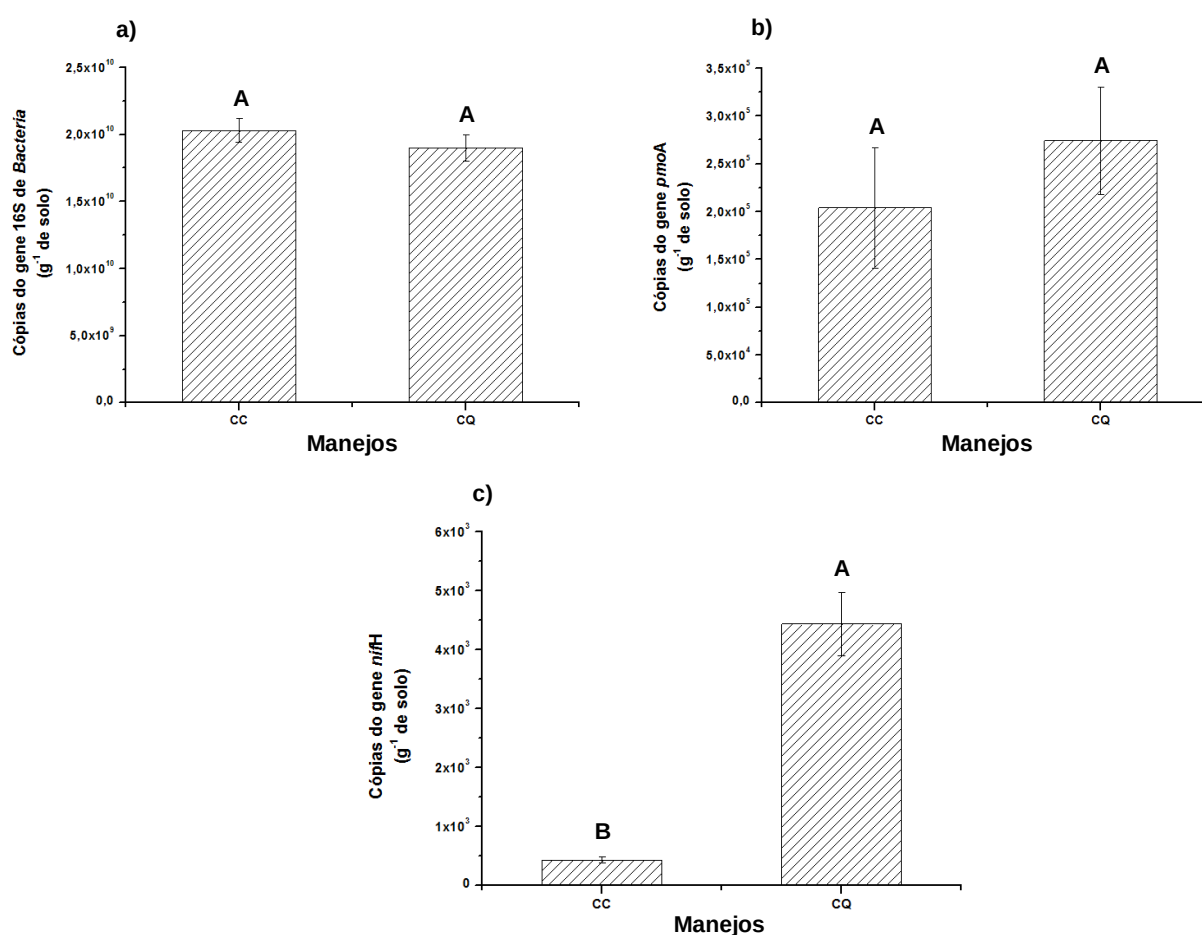


Figura 7. Média $\pm$ erro-padrão da média do número de cópias dos genes 16S rRNA de *Bacteria* (a), *pmoA* (b) e *nifH* (c) nos manejos de cana crua (CC) e cana queimada (CQ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste t de *Student* ($p < 0,01$).

Embora o gene funcional *nifH* esteja relacionado ao ciclo biogeoquímico do nitrogênio, este gene também apresenta interações importantes com as elevações de

CO₂ na atmosfera (XU et al., 2013), bem como, na resposta de diferentes ecossistemas em relação ao potencial de emissão de CO₂ (REICH et al., 2006).

O fornecimento de N no solo é provavelmente um fator importante para a atividade metabólica microbiana. Portanto, a dinâmica entre C e N influencia na liberação de CO₂ (XU et al., 2013).

Desta forma, a relação C/N do solo, além de indicar o desempenho da atividade metabólica dos microrganismos na decomposição da MOS, também permite estabelecer relações sobre a sua capacidade de produzir formas nitrogenadas assimiláveis (SOUSA, 2003; SILVA, 2014).

Quanto mais baixa for essa relação, maior será o processo de decomposição do material orgânico e nesse processo o N será liberado. De modo contrário, quanto maior a relação C/N mais lenta será a velocidade de decomposição e nesse caso o nitrogênio será imobilizado pelos microrganismos (SOUSA, 2003; DORODNIKOV et al., 2011; BRAGA, 2015).

Considerado que a emissão de CO₂ apresenta complexas relações com as condições edafoclimáticas, para verificar os processos oriundos das relações de interdependência dos atributos em estudo foi conduzida a análise fatorial.

Na tabela 5 são apresentados os fatores obtidos e a variância a eles atribuída (cargas fatoriais). A partir da análise pode-se identificar que três processos independentes estão ocorrendo no solo.

Os três fatores juntos explicaram 86% da variação total dos dados originais. O primeiro processo (Fator 1), representa 54,8%, o segundo processo (Fator 2) 20,3% e o terceiro processo (Fator 3) 10,8% da variação total.

O processo contido no Fator 1 é o mais importante para o estudo, pois é derivado do maior autovalor e possui maior percentual de explicação (54,8%), sendo que as variáveis, que mais contribuem nesse, são representadas por: FCO₂ (0,78), Ts (0,91), PLA (0,93), SB (0,77), *pmoA* (0,70), *nifH* (0,96) e Densidade (-0,76).

De acordo com os sinais das cargas fatoriais, o Fator 1 está positiva e fortemente correlacionado com: FCO₂, Ts, PLA, SB, *pmoA* e *nifH*. Entretanto, o mesmo está negativamente correlacionado com a densidade do solo. A partir dessas associações, o Fator 1 pode ser interpretado como o processo que está ocorrendo no

solo relacionado tanto a produção quanto ao transporte de CO₂ e que resultará em maiores ou menores valores da FCO₂ nos sistemas de manejo avaliados.

Tabela 5. Resultado da análise de fatores contendo os três primeiros fatores (processos) com suas respectivas cargas fatoriais que representam os coeficientes de correlação entre os atributos do solo e cada Fator.

Atributos	Fator 1	Fator 2	Fator 3
	54,8%*	20,3%*	10,8%*
FCO ₂	0,78	-0,11	0,23
Ts	0,91	-0,26	0,15
PLA	0,93	-0,08	0,10
SB	0,77	-0,24	-0,19
<i>pmoA</i>	0,70	-0,22	-0,37
<i>nifH</i>	0,96	-0,20	-0,01
Densidade	-0,80	0,12	-0,19
Desidrogenase	0,12	0,87	-0,13
Amilase	-0,32	0,70	0,21
Celulase	-0,25	0,76	0,26
CBM	-0,19	0,86	-0,01
Urease	0,31	-0,36	0,71
Interpretação	Produção e transporte de CO ₂	Atividade enzimática do solo	Atividade enzimática da urease

*Valor referente à porcentagem da variação do conjunto original dos dados retida pelos respectivos fatores. Valores das cargas em negrito (>0,70 em valor absoluto) foram considerados na interpretação do fator. FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; Ts = temperatura do solo; PLA = porosidade livre de água; SB = soma de bases; *pmoA* = gene funcional *pmoA*; *nifH* = gene funcional *nifH*; Densidade = densidade do solo; Desidrogenase = atividade enzimática da desidrogenase; Amilase = atividade enzimática da amilase; Celulase = atividade enzimática da celulase; CBM = carbono da biomassa microbiana do solo; Urease = atividade enzimática da urease.

A produção de CO₂ é basicamente um processo bioquímico relacionado a respiração de raízes e a dinâmica da microbiota, que por sua vez é influenciada pelas condições de temperatura, umidade e estado nutricional do solo (EPRON et al., 2006; LAL, 2009).

Já o transporte do CO₂ do interior do solo até a superfície ocorre por meio de mecanismos de difusão e fluxo de massa, e esses mecanismos variam em função de textura, estrutura e teor de umidade do solo (BALL; SMITH, 1991; KANG et al., 2000). Maior porosidade do solo (aeração) e menor densidade facilitam as trocas de gases entre o solo e a atmosfera, favorecendo a respiração e, por conseguinte, aumento nas

emissões de CO₂ do solo (FANG et al., 1998; CAPECHE et al., 2004; BRADY et al., 2012).

Em adição, os processos biodegradativos relacionados aos ciclos do carbono e nitrogênio que influenciam diretamente na FCO₂, dependem da estrutura, composição e potencial funcional das comunidades microbianas do solo (XU et al., 2013). No caso do presente estudo a estrutura funcional da microbiota está sendo representada pelos genes *pmoA* e *nifH*.

Além desses genes funcionais, ficaram retidos no Fator 1, os atributos do solo que influenciam na dinâmica da microbiota, conforme reportado pelos autores Epron et al. (2006) e Lal (2009), sendo eles: a temperatura do solo (Ts) e a soma de bases (SB) que está associada à fertilidade do solo (Tabela 5).

Em suma, as relações obtidas no Fator 1 indicam que, solos que apresentam maiores valores de Ts, PLA, SB e genes funcionais *pmoA* e *nifH*, e menor densidade, consequentemente emitem mais CO₂, e vice-versa.

Cabe destacar, que na análise da variabilidade temporal, não foi constatada relação entre FCO₂ e Ts, tanto no manejo de cana queimada quanto no de cana crua. No entanto, quando realizada a análise de fatores, observou-se que, a Ts e a FCO₂ estão diretamente associadas (Tabela 5). Panosso et al. (2011) também observaram comportamento similar entre a FCO₂ e a Ts comparando a emissão de CO₂ em áreas de cana crua e cana queimada, em região próxima à condução do presente estudo.

Possivelmente, o fato da umidade do solo (Us) não entrar na análise de fatores, pode ajudar a explicar tal resultado, uma vez que, a Ts e a Us podem covariar (DAVIDSON et al., 2000; SCHWENDENMANN et al., 2003; SAVVA et al., 2013).

Contudo, a partir dos resultados observados por meio da análise de medidas repetidas no tempo para FCO₂, Ts e Us (Tabela 2), sabe-se que a umidade do solo é um fator controlador da variabilidade temporal da emissão de CO₂ do solo tanto no manejo de cana crua quanto no manejo de cana queimada (Tabela 3).

Considerando que os fatores são ortogonais (não correlacionados), os processos retidos nos Fatores 2 e 3 relacionados a atividade enzimática do solo agem independentes ao processo que ocorre no Fator 1 (Tabela 5).

Cabe ressaltar, que a análise multivariada é uma técnica exploratória dos dados e, devido a esta característica, a análise univariada (ANOVA) será sempre útil, para realizar um estudo confirmatório (VICINI, 2005).

Desta forma, no presente estudo foi realizada a ANOVA com os escores retidos no Fator 1 (Figura 8), na qual foi observado que existe uma diferença significativa ($F=82,34$; $p<0,001$), entre os manejos de cana crua e queimada quando avaliados conjuntamente os atributos relacionados ao processo de produção e transporte de CO_2 .

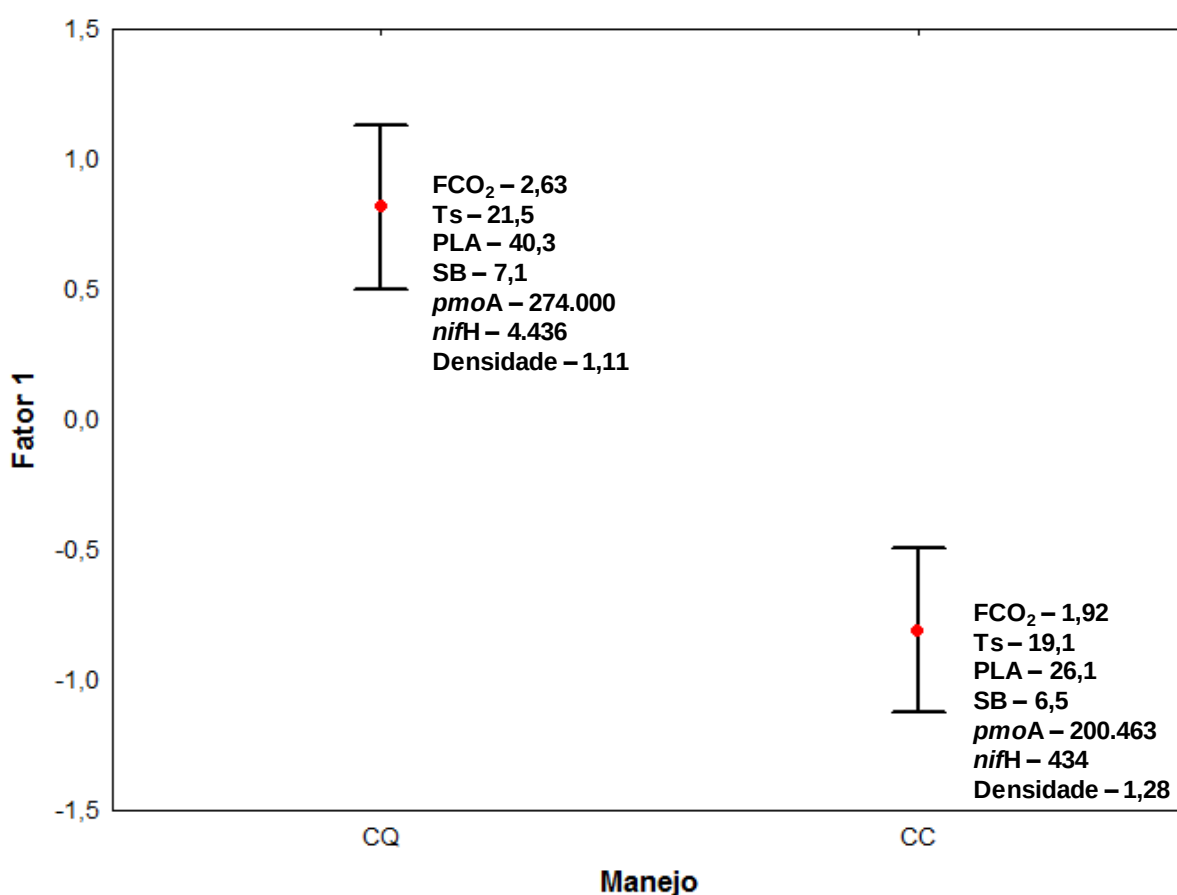


Figura 8. Representação gráfica com os escores do Fator 1 e os atributos associados ao processo de produção e transporte de CO_2 nos manejos de cana crua (CC) e queimada (CQ). As barras verticais denotam intervalos de confiança de 0,95. FCO₂ = emissão de CO_2 do solo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Ts = temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$); PLA = porosidade livre de água (%); SB = soma de bases ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); *pmoA* = gene funcional *pmoA* (g^{-1} de solo); *nifH* = gene funcional *nifH* (g^{-1} de solo) e Densidade = densidade do solo (g/cm^3).

A média dos atributos mais relevantes na composição do Fator 1, foi adicionada à representação gráfica para facilitar a visualização das características envolvidas no processo associado a este fator e que resultou na distinção dos manejos de cana crua e queimada (Figura 8). Assim, os valores mais elevados da FCO_2 , da temperatura, da porosidade livre de água, da soma de bases do solo e do número de cópias dos genes *pmoA* e *nifH*, além de menores valores da densidade do solo contribuem para caracterizar e distinguir o manejo da cana queimada do manejo da cana crua.

2.4 Conclusões

O sistema de manejo em áreas de cana-de-açúcar com colheita da cana crua, mantendo a palha residual sobre o solo sem preparo, contribui para a menor emissão de CO_2 do solo, favorecendo maior teor de umidade e consequente redução da temperatura do solo.

As variações temporais da emissão de CO_2 e da umidade do solo são correlacionadas tanto no manejo de cana crua quanto no manejo de cana queimada.

A temperatura, a umidade, a porosidade livre de água, a soma de bases, a densidade do solo e a abundância dos genes funcionais relacionados ao ciclo do carbono (*pmoA*) e nitrogênio (*nifH*) são os atributos do solo mais representativos que ajudam a caracterizar o processo de emissão de CO_2 em solos manejados com cana-de-açúcar sob sistema de colheita da cana crua e queimada. Portanto, o estudo desses atributos deve ser levado em consideração quando avaliada a variabilidade da emissão de CO_2 em solos agrícolas.

Em termos conservacionistas, os maiores valores médios do estoque e da estabilidade do carbono (estimada pelo tempo de meia-vida e da constante de decaimento do carbono no solo), além da maior atividade enzimática da desidrogenase e relação C/N do solo e, menor valor médio de emissão de CO_2 no solo sob manejo de cana crua quando comparado a cana queimada, permitem inferir que o manejo de cana crua é um ecossistema equilibrado, que apresenta grande potencial tanto para estabilizar o carbono no solo, quanto para reduzir a contribuição da agricultura na emissão de gases do efeito estufa, principalmente o CO_2 .

2.5 Referências

ACRECHE, M. M.; PORTOCARRERO, R.; CHALCO VERA, J.; DANERT, C.; VALEIRO, A. H. Greenhouse gas emissions from green-harvested sugarcane with and without post-harvest burning in Tucumán, Argentina. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 16, n. 2, p. 195–199, 2014.

ANDERSON-TEIXEIRA, K. J.; MASTERS, M. D.; BLACK, C. K.; ZERI, M.; HUSSAIN, M. Z.; BERNACCHI, C. J.; DELUCIA, E. H. Altered belowground carbon cycling following land-use change to perennial bioenergy crops. **Ecosystems**, Verona, v. 16, n. 3, p. 508–520, 2013.

BALL, B. C.; SMITH, K. A. Gas movement. In: SMITH, K.; MULLINS, C. (Eds.). **Soil analysis: physical methods**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 511–549.

BALL, B. C. Soil structure and greenhouse gas emissions: A synthesis of 20 years of experimentation. **European Journal of Soil Science**, West Sussex, v. 64, n. 3, p. 357–373, 2013.

BALSER, T. C.; FIRESTONE, M. K. Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 73, n. 2, 395–415, 2005.

BARBOSA, M. A. **Atributos microbiológicos do solo em sistemas de manejo de longa duração**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; MIRANDA, J. G. V.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial variability structure of soil CO₂ emission and soil attributes in a sugarcane area. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 189, p. 206–215, 2014.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3. ed. São Paulo: Bookman, 2012. 720 p.

BRAGA, G. N. M. **Conhecer o N total na determinação da relação C/N do solo**. 2015. Disponível em: <<http://agronomiacomgismonti.blogspot.com.br/2015/04/conhecer-o-n-total-na-derminacao-da.html>>. Acesso em: 12 nov. 2016.

BRODY, J. R.; CALHOUN, E. S.; GALLMEIER, E.; CREAVALLE, T. D.; KERN, S. E. Ultra-fast high-resolution agarose electrophoresis of DNA and RNA using low-molarity conductive media. **BioTechniques**, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 598–602, 2004.

CAMPOS, F. A. A. **Alternativas para a prática das queimadas na agricultura: Recomendações tecnológicas**. Brasília: Embrapa-DPD/ACS, 2001. 70 p.

CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; RUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E.; SANTOS, G. A. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 935–944, 2003.

CANELLAS, L. P.; BUSATO, J. G.; DOBBS, L. B.; BALDOTTO, M. A.; RUMJANEK, V. M.; OLIVARES, F. L. Soil organic matter and nutrient pools under long-term non-burning management of sugarcane. **European Journal of Soil Science**, West Sussex, v. 61, n. 3, p. 375–383, 2010.

CAPECHE, C. L.; MACEDO, J. R.; MELO, A. S.; ANJOS, L. H. C. **Parâmetros técnicos relacionados ao manejo e conservação do solo, água e vegetação perguntas e respostas**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2004. 16 p. (Comunicado Técnico).

CARMO, J. B.; FILOSO, S.; ZOTELLI, L.; SOUSA NETO, E. R.; PITOMBO, L. M.; VARGAS, V. P.; ANDRADE, C. A.; GAVA, G. C.; ELIA NETO, A.; CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R.; DUARTE NETO, P. J.; GAVA, G. J. C.; MARTINELLI, L. A. Infield greenhouse gas emissions from sugarcane soils in Brazil: effects from synthetic and organic fertilizer application and crop trash accumulation. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, v. 5, n. 3, p. 267–280, 2013.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v. 98, n. 6, p. 371–376, 1964.

CARVALHO, J. L. N.; CERRI, C. E. P.; FEIGEL, B. J.; PICCOLO, M. C.; GODINHO, V. P.; CERRI, C. C. Carbon sequestration in agricultural soils in the Cerrado region of the Brazil Amazon. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 342–349, 2009.

CARVALHO, J. L. N.; OTTO, R.; FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O. Input of sugarcane post-harvest residues into the soil. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, n. 5, p. 336–344, 2013.

CARVALHO, J. L. N.; NOGUEIROL, R. C.; MENANDRO, L. M. S.; BORDONAL, R. O.; BORGES, C. D.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H. C. J. Agronomic and environmental implications of sugarcane straw removal: a major review. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, p. 1-15, 2016.

CARVALHO, J. L. N.; HUDIBURG, T. W.; FRANCO, H. C. J.; DELUCI, E. H. Contribution of above- and belowground bioenergy crop residues to soil carbon. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, v. 9, n. 1, p. 1–269, 2017.

CERRI, C. E. P.; GALDOS, M. V.; CARVALHO, J. L. N.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Quantifying soil carbon stocks and greenhouse gas fluxes in the sugarcane agrosystem: point of view. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 5, p. 361–368, 2013.

CHEN, X.; DHUNGEL, J.; BHATTARAI, S. P.; TORABI, M.; PENDERGAST, L.; MIDMORE, D. J. Impact of oxygation on soil respiration, yield and water use efficiency of three crop species. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 1–13, 2010.

COLE, M. A. Lead inhibition of enzyme synthesis in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 33, n. 2, p. 262–268, 1977.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar**, primeiro levantamento, 2015/2016. 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_09_39_02_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2016.

COSTA, F. S.; BAYER, C.; ZANATTA, J. Á.; MIELNICZUK, J. Estoque de carbono orgânico no solo e emissões de dióxido de carbono influenciadas por sistemas de manejo no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 323–332, 2008.

COSTA, T. R. C. **Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxos de gases em solos sob cerrado e cana-de-açúcar**. 2010. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

DAVIDSON, E. A.; VERCHOT, L. V.; CATTÂNIO, H.; ACKERMAN, I. L.; CARVALHO, E. M. Effects of soil water content on soil respiration in forests and cattle pastures of eastern Amazonia. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 48, n. 1, p. 53–69, 2000.

DING, W.; YU, H.; CAI, Z.; HAN, F.; XU, Z. Responses of soil respiration to N fertilization in a loamy soil under maize cultivation. **Geoderma**, Amsterdam, v. 155, n. 3–4, p. 381–389, 2010.

DORODNIKOV, M.; KUZUYAKOV, Y.; FANGMEIER, A.; WIESENBERG, G. L. B. C and N in soil organic matter density fractions under elevated atmospheric CO₂: Turnover vs. Stabilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 579–589, 2011.

DRIGO, B.; KOWALCHUK, G.; VAN VEEN, J. Climate change goes underground: effects of elevated atmospheric CO₂ on microbial community structure and activities in the rhizosphere. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, 2008, v. 44, n. 5, p. 667–679, 2008.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212 p.

EPRON, D.; BOSC, A.; BONAL, D.; FREYCON, V. Spatial variation of soil respiration across a topographic gradient in a tropical rain forest in French Guiana. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 22, n. 5, p. 565–574, 2006.

FANG, C.; MONCRIEFF, J. B.; GHOLZ, H. L.; KENNETH, L. C. Soil CO₂ efflux and its spatial variation in a Florida slash pine plantation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 205, n. 2, p. 135–146, 1998.

FRANCO, H. C. J.; PIMENTA, M. T. B.; CARVALHO, J. L. N.; MAGALHÃES, P. S. G.; ROSSELL, C. E. V.; BRAUNBECK, O. A.; VITTI, A. C.; KÖLLN, O. T.; ROSSI NETO, J. Assessment of sugarcane trash for agronomic and energy purposes in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 5, p. 305–312, 2013.

GALDOS, M. V.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Soil carbon stocks under burned and unburned sugarcane in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 153, n. 3–4, p. 347–352, 2009.

GEISSELER, D.; HORWATH, W.; SCOW, K. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. **Pedobiologia**, Muenchen, v. 54, n. 2, p. 71–78, 2011.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 688 p.

HAYDEN, H. L.; DRAKE, J.; IMHOF, M.; OXLEY, A. P. A.; NORNG, S.; MELE, P. M. The abundance of nitrogen cycle genes *amoA* and *nifH* depends on land-uses and soil types in South-Eastern Australia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 10, p. 1774–1783, 2010.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 27, n. 4, p. 408–416, 1998.

JEFFERS, J. N. R. **An Introduction to system analysis**: With ecological applications. London: University Park Press, 1978. p. 198.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, New York, v. 23, n. 3, p. 187–200, 1958.

KANAZAWA, S.; MIYASHITA, K. A. Modified method for determination of cellulase activity in forest soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, Singapore, v. 32, n. 1, p. 71–79, 1986.

KANG, S.; KIM, S.; OH, S.; LEE, D. Predicting spatial and temporal patterns of soil temperature based on topography, surface cover, and air temperature. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 136, n. 1–3, p. 173–184, 2000.

KARHU, K.; AUFFRET, M. D.; DUNGAIT, J. A. J.; HOPKINS, D. W.; PROSSER, J. I.; SINGH, B. K.; SUBKE, J.; WOOKEY, P. A.; ÅGREN, G. I.; SEBASTIA, M.; GOURIVEAU, F.; BERGKVIST, G.; MEIR, P.; NOTTINGHAM, A. T.; SALINAS, N.; HARTLEY, I. P. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. **Nature**, London, v. 513, p. 81–84, 2014.

LA SCALA, N.; LOPES, A.; SPOKAS, K.; ARCHER, D.; REICOSKY, D. C. Short-term temporal changes of bare soil CO₂ fluxes after tillage described by first-order decay models. **European Journal of Soil Science**, West Sussex, v. 60, n. 2, p. 258–264, 2009.

LAL, R. Challenges and opportunities in soil organic matter research. **European Journal of Soil Science**, West Sussex, v. 60, n. 2, p. 158–169, 2009.

LEAL, M. R. L.; GALDOS, M. V.; SCARPARE, F. V.; SEABRA, J. E. A.; WALTER, A.; OLIVEIRA, C. O. F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 53, p. 11–19, 2013.

LESAULNIER, C.; PAPAMICHAIL, D.; MCCORKLE, S.; OLLIVIER, B.; SKIENA, S.; TAGHAVI, S.; ZAK, D.; VAN DER LELIE, D. Elevated atmospheric CO₂ affects soil microbial diversity associated with trembling aspen. **Environmental Microbiology**, West Sussex, v. 10, n. 4, p. 926–941, 2008.

LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; CHAER, G.; REIS JÚNIOR, F. B.; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, J. v. 77, n. 2, p. 461–472, 2013.

LUCA, E. F.; FELLER, C.; CERRI, C. C.; BARTHÈS, B.; CHAPLOT, V.; CAMPOS, D. C.; MANECHINI, C. Avaliação de atributos físicos e estoques de carbono e nitrogênio em solos com queima e sem queima de canavial. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 789–800, 2008.

MACEDO, H. S. **Comunidades bacterianas em solos de mata nativa e cultivados com cana-de-açúcar**. 2012. 78 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Jaboticabal, 2012.

McGARITY, J. W.; MYERS, M. G. A survey of urease activity in soils of northern New South Wales. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 27, n. 2, p. 217–238, 1967.

MENDOZA, H. N. S.; LIMA, E.; ANJOS, L. H. C.; SILVA, L. A.; CEDDIA, M. B.; ANTUNES, M. V. M. Propriedades químicas e biológicas de solo de tabuleiro cultivado com cana-de-açúcar com e sem queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 201–207, 2000.

MOITINHO, M. R.; PADOVAN, M. P.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; FERRAUDO, A. S.; LA SCALA, N. On the spatial and temporal dependence of CO₂ emission on soil properties in sugarcane (*Saccharum* spp.) production. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 148, p. 127–132, 2015.

MORELL, F. J.; ÁLVARO-FUENTES, J.; LAMPURLANÉS, J.; CANTERO-MARTÍNEZ, C. Soil CO₂ fluxes following tillage and rainfall events in a semiarid Mediterranean agroecosystem: Effects of tillage systems and nitrogen fertilization. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 139, n. 1–2, p. 167–173, 2010.

MUMMEY, D. L.; HOLBEN, W.; SIX, J.; STAHL, P. A. Spatial stratification of soil bacterial populations in aggregates of diverse soils. **Microbial Ecology**, New York, v. 51, n. 3, p. 404–411, 2006.

OLIVEIRA, V. S.; ROLIM, M. M.; VASCONSELOS, R. F. B.; COSTA, Y. D. J.; PEDROSA, E. M. R. Compactação de um Argissolo Amarelo distrocoeso submetido a diferentes manejos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 914–920, 2010.

ORDÓÑEZ-FERNÁNDEZ, R.; CARBONELL BOJOLLO, R.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, P.; PEREA TORRES, F. Influencia de la climatología y el manejo del suelo en las emisiones de CO₂ en un suelo arcilloso de la vega de Carmona. **Carel**, Carmona, n. 6, p. 2339–2354, 2008.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr. J.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial and temporal variability of soil CO₂ emission in a sugarcane area under green and slash-and-burn managements. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 275–282, 2009.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr., J.; MILORI, D. M. B. P.; FERRAUDO, A. S.; BARBIERI, D. M.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Soil CO₂ emission and its relation to soil properties in sugarcane areas under Slash-and-burn and Green harvest. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 111, n. 2, p. 190–196, 2011.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 18. ed. São Paulo: Nobel, 2006. 541 p.

RAZAFIMBELO, T.; BARTHÈS, B.; LARRE´-LARROUY, M. C.; DE LUCA, E. F.; LAURENT, J. Y.; CERRI, C. C.; FELLER, C. Effect of sugarcane residue management (mulching versus burning) on organic matter in a clayey Oxisol from southern Brazil. **Agriculture Ecosystems Environment**, Amsterdam, v. 115, n. 1–4, p. 285–289, 2006.

REICH, P. B.; HOBIE, S. E.; LEE, T.; ELLSWORTH, D. S.; WEST, J. B.; TILMAN, D.; KNOPS, J. M. H.; NAEEM, S.; TROST, J. Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO₂. **Nature**, London, v. 440, p. 922–925, 2006.

ROBERTSON, F. A.; THORBURN, P. J. Crop residue effects on soil C and N cycling under sugarcane. In: REES, R. M.; BALL, B. C.; CAMPBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Eds.). **Sustainable management of soil organic matter**. Wallingford: CAB International, 2001. p. 112–119.

ROSCOE, R.; BUURMAN, P. Tillage effects on soil organic matter in density fractions of a Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 70, n. 2, p. 107–119, 2003.

ROSENZWEIG, S. T.; CARSON, M. A.; BAER, S. G.; BLAIR, J. M. Changes in soil properties, microbial biomass, and fluxes of C and N in soil following post-agricultural grassland restoration. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 100, p. 186–194, 2016.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: A Laboratory manual**. 2. ed. Cold Spring Harbor: Laboratory Press, 1989. p. 125–130.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; OLIVEIRA, J. B.; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

SAVVA, Y.; SZLAVECZ, K.; CARLSON, D.; GUPCHUP, J.; SZALAY, A.; TERZIS, A. Spatial patterns of soil moisture under forest and grass land cover in a suburban area, in Maryland, USA. **Geoderma**, Amsterdam, v. 192, p. 202–210, 2013.

SÃO PAULO (Estado). **Lei Estadual no. 11.241/2002**: Dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana-de-açúcar e dá providências correlatas. 2002. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/lei/2002/lei-11241-19.09.2002.html>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

SCHWENDENMANN, L.; VELDKAMP, E.; BRENES, T.; O'BRIEN, J. J.; MACKENSEN, J. Spatial and temporal variation in soil CO₂ efflux in an old-growth neotropical rain forest, La Selva, Costa Rica. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 64, n. 1, p. 111–128, 2003.

SILVA, L. B. C. **Efeitos do aquecimento e da elevada concentração atmosférica de CO₂ na dinâmica de carbono e nitrogênio do solo e de duas forrageiras tropicais (*Panicum maximum* e *Stylosanthes capitata*)**. 2014. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

SILVA-OLAYA, A. M.; CERRI, C. E. P.; LA SCALA, N.; DIAS, C. T. S.; CERRI, C. C. Carbon dioxide emissions under different soil tillage systems in mechanically harvested sugarcane. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2013.

SIX, J.; FREY, S. D.; THIES, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 70, n. 2, p. 555–569, 2006.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: Freeman and Co., 1973. 573 p.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 195, n. 1, p. 19–23, 1952.

SOUSA, S. G. A. **Produção e decomposição de serapilheira de uma floresta ombrófila mista aluvial, Rio Barigui, Araucária, PR**. 2003. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

SOUZA, R. A.; TELLES, T. S.; MACHADO, W.; HUNGRIA, M.; TAVARES FILHO, J.; GUIMARÃES, M. F. Effects of sugarcane harvesting with burning on the chemical and microbiological properties of the soil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 155, p. 1–6, 2012.

SUBHANI, A.; CHANGYONG, H.; ZHENG MIAO, Y.; MIN, L.; EL-GHAMRY, A. Impact of soil environment and agronomic practices on microbial/dehydrogenase enzyme activity in soil. A Review. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 4, n. 3, p. 333–338, 2001.

TAN, X.; CHANG, S. X.; KABZEMS, R. Soil compaction and forest floor removal reduced microbial biomass and enzyme activities in a boreal aspen forest soil. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 44, n. 3, p. 471–479, 2008.

TAVARES FILHO, J.; BARBOSA, G. M. C.; RIBON, A. A. Physical properties of dystrophic Red Latosol (Oxisol) under different agricultural uses. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 925–933, 2010.

TAVARES, R. L. M.; FARHATE, C. V. V.; SOUZA, Z. M.; LA SCALA, N.; TORRES, J. L. R.; CAMPOS, M. C. C. Emission of CO₂ and soil microbial activity in sugarcane management systems. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 10, n. 9, p. 975–982, 2015.

TEIXEIRA, D. D. B.; BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; PERILLO, L. I.; IAMAGUTI, J. L.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Uncertainties in the prediction of spatial variability of soil CO₂ emissions and related properties. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1466–1475, 2012.

THORBURN, P. J.; MEIER, E. A.; COLLINS, K.; ROBERTSON, F. A. Changes in soil carbon sequestration, fractionation and soil fertility in response to sugarcane residue retention are site-specific. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 99–111, 2012.

TOMINAGA, T. T.; CÁSSARO, F. A. M.; BACCHI, O. O. S.; REICHARDT, K.; OLIVEIRA, J. C. M.; TIMM, L. C. Variability of soil water content and bulk density in a sugarcane field. **Australian Journal of Soil Research**, Clayton, v. 40, n. 4, p. 605–614, 2002.

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os microrganismos do solo umidade e aeração. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds.) **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 60–89.

UHLIROVA, E.; ELHOTTOVA, D.; TRISKA, J.; SANTRUCKOVA, H. Physiology and microbial community structure in soil at extreme water content. **Folia Microbiologica**, Praha v. 50, p. 161–166, 2005.

USSIRI, A. N.; LAL, R. Long-term tillage effects on soil carbon storage and carbon dioxide emissions in continuous corn cropping system from an alfisol in Ohio. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 39–47. 2009.

VARGAS, V. P.; CANTARELLA, H.; MARTINS, A. A.; SOARES, J. R.; CARMO, J. B.; ANDRADE, C. A. Sugarcane crop residue increases N₂O and CO₂ emissions under high soil moisture conditions. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 16, n. 2, p. 174–179, 2014.

VELDKAMP, E. Organic carbon turnover in three tropical soils under pasture after deforestation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 58, n. 1, p. 175–180, 1994.

VICINI, L. **Análise multivariada da teoria à prática**. 2005. 214 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

VITTI, A. C.; FERREIRA, D. A.; FRANCO, H. C. J.; FORTES, C.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; TRIVELIN, P. C. O. Utilisation of nitrogen from trash by sugarcane ratoons. **Sugar Cane International**, Tunbridge Well, v. 28, n. 6, p. 249–253, 2010.

VOGELMANN, E. S.; REICHERT, J. M.; REINERT, D. J.; MENTGES, M. I.; VIEIRA, D. A.; BARROS, C. A. P.; FASINMIRIN, J. T. Water repellency in soils of humid subtropical climate of Rio Grande do Sul, Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 126–133, 2010.

WANG, J.; LIU, Q. Q.; CHEN, R. R.; LIU, W. Z.; SAINJU, U. M. Soil carbon dioxide emissions in response to precipitation frequency in the Loess Plateau, China. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 288–295, 2015.

WEAVER, M.; ZABLOTOWICZ, R.; KRUTZ, L.; BRYSON, C.; LOCKE, M. Microbial and vegetative changes associated with development of a constructed wetland. **Ecological Indicators**, New York, v. 13, n. 1, p. 37–45, 2012.

XU, M.; HE, Z.; DENG, Y.; WU, L.; VAN NOSTRAND, J.; HOBBIE, S. E.; REICH, P. B.; ZHOU, J. Elevated CO₂ influences microbial carbon and nitrogen cycling. **BMC Microbiology**, London, v. 13, p. 124, 2013.

ZANCHI, F. B.; ROCHA, H. R.; KRUIJT, B.; CARDOSO, F. L.; DEUS, J. A.; AGUIAR, L. J. G. Medição do efluxo de CO₂ do solo: monitoramento com câmaras automáticas sobre floresta e pastagem em Rondônia. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 6., 2003, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Ed. Betania, 2003. p. 631–632.

ZHAO, B.; CHEN, J.; ZHANG, J.; QIN, S. Soil microbial biomass and activity response to repeated drying-rewetting cycles along a soil fertility gradient modified by long-term fertilization management practices. **Geoderma**, Amsterdam, 160, n. 2, p. 218–224, 2010.

CAPÍTULO 3 – Variabilidade espacial da emissão de CO₂ e atributos do solo associados a microbiota em área de reforma do canavial

RESUMO – A estrutura espacial da emissão de CO₂ do solo (FCO₂) e demais atributos é afetada por inúmeros fatores de forma altamente complexa devido à covariação espacial e temporal entre eles. As práticas de manejo do solo também contribuem para aumentar essa variabilidade, uma vez que afetam as características do mesmo refletindo na composição da comunidade microbiana do solo. Neste contexto objetivou-se caracterizar os padrões da variabilidade espacial da FCO₂ e dos atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo em área de cana-de-açúcar após as atividades de reforma. O estudo foi conduzido sob Latossolo Vermelho eutroférico ao longo de 28 dias e foram realizadas 10 avaliações da FCO₂, temperatura do solo (TS) e umidade do solo (US), em um gradeado regular de 90 × 90 m contendo 100 pontos amostrais. Foram coletadas amostras de solo, em cada ponto amostral, na profundidade de 0-0,20 m para determinação dos atributos físicos e químicos do solo. Foram realizadas análises geoestatísticas para a avaliação da variabilidade espacial e mapeamento dos atributos avaliados. Após o mapeamento da FCO₂, foram identificadas duas regiões (R1 e R2) na área em estudo com diferentes valores de emissão, nas quais foram determinadas a abundância dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH* por PCR quantitativo em tempo real (qPCR), e demais análises da atividade enzimática do solo. A FCO₂ apresentou valor médio de 2,91 μmol m⁻² s⁻¹. Os padrões espaciais de FCO₂ foram similares aos dos atributos: macroporos, porosidade livre de água, teor de silte, matéria orgânica e constante de decaimento do carbono no solo. Embora não houve diferença significativa para o número de cópias dos genes 16S rRNA de *Bacteria* e *nifH* entre as regiões R1 e R2, os resultados da qPCR para o gene *pmoA* apresentaram diferenças (p<0,01) entre as regiões analisadas. A região R1 com maior emissão (2,9 a 4,2 μmol m⁻² s⁻¹) apresentou maior atividade enzimática da desidrogenase (33,02 μg TPF g⁻¹ SS 24 h⁻¹), urease (41,15 μg NH₄ N/3h.g SS), amilase (73,84 μg de glicose g⁻¹ SS 24 h⁻¹) e carbono da biomassa microbiana (41,35 μg g⁻¹ de C no solo) em relação à região R2 com menor emissão (1,9 a 2,7 μmol m⁻² s⁻¹), que por sua vez apresentou menor atividade enzimática da desidrogenase (22,90 μg TPF g⁻¹ SS 24 h⁻¹), urease (31,07 μg NH₄ N/3h.g SS), amilase (64,81 μg de glicose g⁻¹ SS 24 h⁻¹) e carbono da biomassa microbiana (17,87 μg g⁻¹ de C no solo). Em adição, a relação C/N do solo foi maior em R2 (15,43) quando comparada a R1 (12,18). Os resultados do presente estudo indicam que o padrão espacial da FCO₂ nas regiões R1 e R2 pode não estar relacionado diretamente com a quantidade total da comunidade microbiana (16S rRNA) presente no solo, mas sim, com a função específica que esses microrganismos desempenham em relação a degradação do carbono no solo (*pmoA*). Desta forma, o fato da região R1 apresentar maior potencial para FCO₂ quando comparada a região R2 está associado a maior atividade microbiana do solo em R1 favorecida pelas condições de menor relação C/N, e melhor estado nutricional, verificado pelo maior teor de MOS, Ca e Mg, além de melhores condições de aeração do solo, devido ao maior porcentual de macroporos e porosidade livre de água em R1.

Palavras-chave: atividade enzimática, PCR em tempo real, 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH*, geoestatística, preparo do solo, respiração do solo

Spatial variability of soil CO₂ emission and soil attributes associated with the microbiota of a sugarcane field reform area

ABSTRACT – Spatial structure of soil CO₂ emission (FCO₂) and other soil attributes is affected by different factors in a highly complex form due to spatial and temporal covariation between them. Soil management practices also contribute to increasing this variability, affecting its characteristics and reflecting on soil microbial community composition. In this context, the aim of this study was to characterize the spatial variability patterns of FCO₂ and soil physical, chemical, and microbiological attributes in a sugarcane field area after reform activities. The study was conducted in an Oxisol (Eutroorthox, USDA Soil Taxonomy) over a period of 28 days, being performed 10 measurements of FCO₂, soil temperature (TS), and soil moisture (MS) in a regular 90 × 90-m grid containing 100 sampling points. Soil samples were collected at each sampling point at a depth 0–0.20 m to determine soil physical and chemical attributes. Geostatistical analyses were performed for assessing the spatial variation and mapping soil attributes. After FCO₂ mapping, two regions (R1 and R2) with different emission values were identified in the study area. The abundance of 16S rRNA genes of *Bacteria*, *pmoA*, and *nifH* were determined in these areas by quantitative real-time PCR (qPCR), in addition to other soil enzymatic activity analyses. FCO₂ presented an average value of 2.91 μmol m⁻² s⁻¹. The spatial patterns of FCO₂ were similar to those of macropores, air-filled pore space, silt content, organic matter, and soil carbon decay constant. Although no significant difference was observed for 16S rRNA gene copy number of *Bacteria* and *nifH* between regions R1 and R2, qPCR for *pmoA* gene presented differences (p<0.01) between regions. The R1 region with the highest emission (2.9 to 4.2 μmol m⁻² s⁻¹) showed higher enzymatic activity of dehydrogenase (33.02 μg TPF g⁻¹ dry soil 24 h⁻¹), urease (41.15 μg NH₄ N g⁻¹ dry soil 3 h⁻¹), amylase (73.84 μg glucose g⁻¹ dry soil 24 h⁻¹), and microbial biomass carbon (41.35 μg g⁻¹ soil C) in relation to the R2 region with the lowest emission (1.9 to 2.7 μmol m⁻² s⁻¹), which presented lower enzymatic activity of dehydrogenase (22.90 μg TPF g⁻¹ dry soil 24 h⁻¹), urease (31.07 μg NH₄-N g⁻¹ dry soil 3 h⁻¹), amylase (64.81 μg glucose g⁻¹ dry soil 24 h⁻¹), and microbial biomass carbon (17.87 μg g⁻¹ soil C). In addition, the soil C/N ratio was higher in R2 (15.43) when compared to R1 (12.18). The results of this study indicate that the spatial pattern of FCO₂ in the regions R1 and R2 may not be directly related to the total amount of microbial community (16S rRNA) in the soil, but to the specific function that these microorganisms play in relation to soil carbon degradation (*pmoA*). Thus, region R1 presents a greater potential for FCO₂ when compared to R2 because it is associated with a greater soil microbial activity in R1 favored by a lower C/N ratio and better nutritional status, as observed by the higher contents of soil organic matter, Ca, and Mg, in addition to better soil aeration conditions due to higher percentages of macropores and air-filled pore space in R1.

Keywords: enzymatic activity, real-time PCR, 16S rRNA of *Bacteria*, *pmoA*, and *nifH*, geostatistics, soil tillage, soil respiration

3.1 Introdução

A perda de carbono é uma das principais ameaças para o solo e sua proteção é listada como um dos principais objetivos na preservação do solo pela FAO (BOT; BENITES, 2005). Uma diminuição no carbono orgânico afeta a estrutura do solo, tornando-o mais sensível à compactação e reduzindo sua capacidade de reter água e nutrientes (JI et al., 2013)

O intenso preparo do solo realizado durante as atividades de reforma em áreas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), modifica sua arquitetura, aumentando a altura e a rugosidade da superfície do solo, a quantidade de espaço de poros cheio de ar, também mistura o solo e cria diferentes distribuições de tamanho agregado, alterando as condições de umidade e de temperatura (KAINIEMI, 2014; SOANE et al., 2012).

Esta prática de manejo causa interações complexas entre a disponibilidade de água, elevação de temperatura, maior aeração e substrato para os microrganismos nas camadas superficiais do solo, afetando a atividade de mineralização, que regula o acúmulo de carbono do solo (HAYDEN et al., 2010). Além das atividades empregadas de preparo do solo, a calagem para a correção do pH também incrementa significativamente as emissões de CO₂ do solo (TEIXEIRA et al., 2010; SILVA-OLAYA et al., 2013; SILVA et al., 2013; IAMAGUTI et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2015).

A variabilidade espacial da respiração do solo tem sido associada aos padrões de diferentes propriedades do solo, como por exemplo, quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo (SCOTT-DENTON et al., 2003; SOE; BUCHMANN, 2005; SAIZ et al., 2006), porosidade total e livre de água (FANG et al., 1998; PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012), valor de pH (RETH et al., 2005), biomassa microbiana (XU; QI, 2001), oxigenação (CHEN et al., 2010) e textura do solo (HECKRATH et al., 2005; PAPIERNIK et al., 2007), estão relacionados diretamente à emissão de CO₂ e também são influenciados pelo manejo do solo.

Os estudos conduzidos em áreas de cana-de-açúcar geralmente se limitam a investigar o padrão espacial da emissão de CO₂ nos diferentes sistemas de manejo da colheita da cultura (PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2013; BICALHO et al., 2014; TAVARES et al., 2016), entretanto, há uma escassez de estudo que avaliaram este padrão em áreas após a reforma do canavial.

Em solos desprovidos de vegetação, e exemplo da área em estudo, na qual até mesmo as soqueiras da cana-de-açúcar são eliminadas com o advento da reforma, a respiração do solo é exclusivamente heterotrófica (FANG; MONCRIEFF, 1999; HERBST et al., 2012).

Embora o padrão espacial da microbiota do solo seja frequentemente associado com as espécies de plantas e biomassa presente no ambiente (HOOPER et al., 2000), as transformações que ocorrem nesse ambiente devido ao manejo físico e químico do solo interferem significativamente na capacidade metabólica e funcional dessa comunidade, e na presença de microrganismos específicos (COSTA, 2010; RODRIGUES, 2011; PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2015).

A enorme diversidade de microrganismos propiciou o desenvolvimento de métodos independentes de cultivo, por meio do emprego de poderosas ferramentas baseadas na análise do DNA total extraído da microbiota do solo. A partir de técnicas moleculares obtém-se informações sobre a diversidade genética total de uma determinada comunidade Bacteriana presente no solo (TORSVIK; ØVREAS, 2002).

Dentre as técnicas moleculares, a PCR em Tempo Real (*Real-time polymerase chain reaction*) tem sido muito utilizada em amostras retiradas diretamente do ambiente, por meio dessa técnica é possível estimar o número de cópias de genes específicos (CANNAVAN, 2007; MENDES et al., 2009; NAVARRETE et al., 2015).

Embora o estudo da variação espacial da FCO₂ em pequenas e médias escalas (malha amostral entre 1 m² a 1 ha) seja conduzido por vários autores, a mesma sempre é associada aos atributos físico-químicos do solo (KONDA et al., 2010; PANOSSO et al., 2011; HERBST et al., 2012, MOYANO et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2013; BICALHO et al., 2014; MOITINHO et al., 2015), ou a padrões espaciais da cobertura vegetal no caso de florestas (XU; QI, 2001; SOTTA et al., 2006).

Já a variabilidade espacial dos atributos biológicos somente é estudada em pequenas escalas nas quais envolvem diferentes manejos e usos do solo (FANG; MONCRIEFF, 1999; XU; QI, 2001; KATSALIROU et al., 2010), principalmente devido ao alto custo na quantificação de suas análises que inviabiliza o estudo de grandes quantidades de amostras. Por outro lado, como a microbiologia é fundamental para o processo de produção do CO₂ no solo, esta possivelmente, é relacionada à FCO₂ em outras escalas, e este fato é negligenciado.

Diante desse contexto, a hipótese do presente estudo baseia-se no fato de que, a variação espacial da FCO_2 pode ser explicada além da variabilidade dos atributos físicos e químicos do solo, também pela variação dos atributos microbiológicos do solo. Desta forma, objetivou-se caracterizar o padrão da variabilidade espacial da emissão de CO_2 e atributos físicos, químicos e microbiológicos do solo em área de cana-de-açúcar após as atividades de reforma.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Localização e caracterização da área de estudo

O estudo foi conduzido em área agrícola destinada à produção de cana-de-açúcar localizada no município de Barrinha, São Paulo, Brasil (Figura 1a). As coordenadas geográficas centrais da área são $21^\circ 13'$ de latitude Sul e $48^\circ 07'$ de longitude Oeste, com elevação média de 555 m acima do nível do mar. O solo é caracterizado por Latossolo Vermelho eutrófico (SANTOS et al., 2013), e relevo com declividade menor que 0,5%.

A área ocupa a província geomorfológica denominada de “*Cuestas Basálticas*”. Segundo a classificação de Thornthwaite, o clima local pode ser definido como $\text{B}_{1r}\text{B}'_{4a}$, Tipo Mesotérmico Úmido, com pequena deficiência hídrica, sendo a evapotranspiração de verão menor que 70% da evapotranspiração anual.

A precipitação média anual é de 1.560 mm, concentrada entre os meses de outubro e março, com $22,2^\circ\text{C}$ de temperatura média anual registrada na região, nos últimos 30 anos.

Na área cultiva-se a cultura da cana-de-açúcar há mais de 10 anos sob o sistema de colheita mecanizada da cana crua, a última reforma do canavial foi realizada em 2008.

Previamente as operações de preparo, foi realizada a eliminação mecânica da soqueira. A operação foi conduzida com um implemento constituído de enxadas rotativas, que em alta rotação, cortam o solo e a soqueira e os arremessam em alta velocidade contra a placa de impacto do implemento, havendo a quebra dos torrões de solo e a separação das raízes da soqueira do contato com o solo. Após a eliminação mecânica da soqueira foram realizados em sequência: calagem, gessagem e passagem de grade niveladora (Figura 1b).



Figura 1. Localização (a) e visão da área de estudo após as atividades de preparo do solo (b) e, malha amostral (c).

A operação de preparo do solo constituiu-se na utilização de uma grade intermediária de arrasto de dupla ação deslocada, com 28 discos de 28" do tipo recortado, sendo 14 discos na seção dianteira e 14 na seção traseira. A largura do trabalho do implemento foi de 3,5 m e a profundidade de trabalho de 0,25 m, sendo realizadas duas passadas com grade a uma velocidade média de aproximadamente 7 Km h⁻¹, a segunda imediatamente após a primeira de forma a simular o efeito da grade aradora. Após essas operações foi instalado um gradeado regular de 90 × 90 m contendo 100 pontos, com distância mínima entre os pontos amostrais de 10 m (Figura 1c).

3.2.2 Avaliação da emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo

Foram 10 dias de avaliações, compreendidos num período de 28 dias (24; 26 e 30 de setembro de 2013 e 03; 07; 10; 14; 16; 18 e 21 de outubro de 2013). As mesmas foram conduzidas durante o horário matutino, das 8 às 10h50.

Após o término das avaliações calculou-se a média pontual dos valores de emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo visando uma melhor representação dessas variáveis durante o período de reforma.

Para as avaliações da emissão de CO₂ do solo (FCO₂), foi utilizado o sistema portátil LI-COR, modelo LI-8100, que monitoraram as variações da concentração de CO₂ no interior da câmara de solos por meio de espectroscopia de absorção óptica na região espectral do infravermelho. A câmara de solos é um sistema fechado com volume interno de 854,2 cm³ e área de contato circular de 83,7 cm², sendo acoplada

sobre colares de PVC previamente inseridos em cada um dos pontos amostrais a uma profundidade de 3 cm. O fluxo de CO₂ foi computado em cada ponto por um ajuste da concentração de CO₂ do ar dentro da câmara em função de uma regressão parabólica no tempo após o seu fechamento. O tempo de medição da emissão de CO₂ do solo foi de 90 s em cada um dos pontos da malha amostral sendo a concentração de CO₂ dentro da câmara determinada a cada 2,5 segundos, aproximadamente.

A temperatura do solo (TS) foi monitorada por meio de um sensor de temperatura que é parte integrante do sistema LI-8100. Consiste de uma haste de 20 cm que é inserida no interior do solo a 5 cm do local onde foram previamente instalados os colares de PVC para a avaliação da emissão de CO₂ do solo.

Da mesma forma, a umidade do solo (US) foi registrada utilizando-se um aparelho TDR – Time Domain Reflectometry (Hydrosense TM, Campbell Scientific, Austrália), constituído por uma sonda com duas hastes de 12 cm que foram inseridas no interior do solo, perpendicular em relação à superfície, também a 5 cm dos colares de PVC. O valor da umidade do solo é derivado a partir do tempo que uma corrente elétrica leva para percorrer a distância de 32 mm de uma haste a outra. As avaliações da temperatura e umidade do solo foram realizadas concomitantemente às avaliações da emissão de CO₂ do solo.

3.2.3 Determinação dos atributos físicos e químicos do solo

A amostragem do solo foi realizada, entre os dias 23 e 25 de outubro de 2013, na camada de 0 a 20 cm de profundidade em cada ponto amostral onde a emissão de CO₂ do solo foi avaliada, sendo, portanto, coletadas 100 amostras deformadas para as análises químicas e 100 amostras indeformada para as análises físicas.

Para a análise química, as amostras foram coletadas com um trado tipo holandês, e posteriormente secas, destorroadas e peneiradas (na peneira de 2 mm) antes de serem submetidas às seguintes análises: determinação do teor de matéria orgânica (MO), disponibilidade de fósforo (P) e teores de K, Ca, Mg e H+Al (RAIJ, 2001), soma de bases (SB) e capacidade de troca de cátions do solo (CTC).

Para se estimar os valores do carbono orgânico total (COT), os valores da MOS foram divididos por 1,724.

A análise de nitrogênio total do solo foi realizada pelo método de Kjeldahl. Neste método, o N é convertido em sulfato de amônio pela oxidação com uma mistura de CuSO_4 , H_2SO_4 e Na_2SO_4 . Posteriormente, em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia que, em câmara de difusão, é complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto, sendo finalmente determinado por acidimetria (H_2SO_4 ou HCl) (EMBRAPA, 1997).

A análise granulométrica (areia, silte e argila) foi realizada por meio do método da pipeta, empregando-se NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como dispersante químico e agitação mecânica de baixa rotação, por 16 horas (EMBRAPA, 1997). As frações que englobam partículas maiores que $0,1 \text{ mm}$ foram separadas por peneiramento (peneira de $0,105 \text{ mm}$) e as frações de tamanho menor por sedimentação, segundo a lei de Stokes, sendo o silte determinado por diferença.

A densidade do solo foi determinada a partir de amostras indeformadas coletadas com amostrador adaptado a cilindros com dimensões médias de 5 cm de diâmetro interno e 4 cm de altura (EMBRAPA, 1997).

O volume total de poros foi calculado com base no valor da densidade, com a distribuição de poros por tamanho determinada por meio de funil de placa porosa sob tensão de 60 cm de altura de coluna d'água em amostras previamente saturadas. O volume de poros retidos na amostra correspondeu aos microporos e a diferença calculada entre o volume total de poros e os microporos foi correspondente aos macroporos (EMBRAPA, 1997).

A porosidade livre de água (PLA) foi calculada pela diferença entre a fração da porosidade preenchida por água, determinada pela US e o volume total de poros (VTP).

O estoque de carbono foi calculado com base na metodologia descrita por Veldkamp (1994), por meio da equação 1:

$$\text{EstC} = (\text{CO} \times \text{Ds} \times \text{E})/10 \quad (1)$$

Em que, EstC é o estoque de carbono (Mg ha^{-1}), CO é o teor de carbono orgânico (g kg^{-1}), Ds é a densidade do solo (Mg m^{-3}) e E é a espessura da camada estudada ($0,20 \text{ m}$).

A estabilidade do carbono no solo na área em reforma foi estimada por meio da equação 2:

$$k = C\text{-CO}_2/\text{EstC} \quad (2)$$

Em que, k é a constante de decaimento, $C\text{-CO}_2$ é o carbono lábil emitido para a atmosfera na forma de CO_2 e EstC é o estoque de carbono do solo.

3.2.4 Análises Microbiológicas

Após a interpolação da FCO_2 , foram identificadas duas regiões com potenciais de emissão distintos, denominadas de R1 (região 1) e R2 (região 2), nas quais foram coletadas amostras de solo em cada região para a caracterização microbiológica por meio das análises descritas na sequência.

3.2.5 PCR quantitativo em Tempo Real

3.2.5.1 Extração de DNA das amostras ambientais

Amostras de solo foram coletadas em 9 pontos demarcados em cada área experimental (R1 e R2). As coletas foram realizadas com o auxílio de tubos de PVC previamente esterilizados, de 50 cm de comprimento por 5 cm de diâmetro, sendo introduzidos de forma vertical no solo. Posteriormente, os tubos foram vedados para evitar perda das amostras, armazenados em caixas térmicas com gelo e rapidamente enviados para o Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP.

No Laboratório as amostras foram armazenadas em ultra-freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até serem utilizadas para a extração do DNA genômico do solo.

O DNA genômico do solo coletado em cada região foi extraído usando o kit FastDNA® SPIN Kit for Soil, seguindo as instruções do fabricante, e armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o uso. Para confirmar a qualidade da extração de DNA, uma alíquota de 5 μl foi submetido a eletroforese em gel de agarose 1% (p/v) corado em GelRed™ (Uniscience) em tampão SB (BRODY et al., 2004). Como padrão molecular foi

utilizado 2 µl de *Low Mass DNA Ladder* (Invitrogen). O gel foi submetido a um campo elétrico de 85 V por aproximadamente 30 minutos.

Posteriormente, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro de Nanodrop 2000c (Thermocientific), adotando-se a relação de 1,0 densidade ótica a 260 nm (DO_{260}) como sendo igual a 50 ng de DNA.µ⁻¹ (SAMBROOK; FRITISCH; MANIATS; 1989).

3.2.5.2 Detecção e quantificação dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH* por PCR quantitativo

As reações de PCR quantitativo foram realizadas no equipamento *StepOne Plus™* Real-Time PCR System (Applied Applied Biosystems) para os genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH*, no sistema SYBER Green I. As condições estabelecidas para cada gene estão descritas na Tabela 1. Ao final de cada reação foi incluída uma curva de *Melting* nas seguintes condições 95 °C por 15 s, a temperatura de anelamento do primer por 1 minuto e aumentada gradativamente, com leitura dos dados, a cada 0,7 °C até 95 °C.

Tabela 1. Primers utilizados para a amplificação dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH*.

Genes alvo	Primers	Sequência (5'- 3')	Tamanho fragmento (pb)	Referência	Condições de Amplificação
16S rRNA <i>Bacteria</i>	Eub 338f Eub 518r	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG ATTACCGCGGCTGCTGG	180	Bakke et al. (2011)	95°C - 10 min; 40 ciclos, 94°C – 15 s, 56°C - 30 s e 72 °C - 45 s
<i>pmoA</i>	A189 f A682 r	GGN GAC TGG GAC TTC TGG GAA SGC NGA GAA GAA SGC	273	Degelmann et al. (2010)	95°C - 05 min; 40 ciclos, 94°C – 20s, 55°C – 01 min s, 72°C – 45s
<i>nifH</i>	<i>nifH</i>	AAA GGY GGW ATC GGY AAR TCC ACC AC TTG TTS GCS GCR TAC ATS GCC ATC AT	457	Wallenstein e Vilgalys (2005)	95°C - 5 min; 40ciclos, 95 °C – 30 s, 59°C - 30 s e 72°C – 1 min e 72° C – 1 min

As curvas padrão foram obtidas realizando amplificações com o número de cópias do DNA molde de *Pseudomonas fluorescens* para o gene 16S rRNA de *Bacteria*, DNA de amostra ambiental para o gene *pmoA* e *Bradyrhizobium liaoningensi*

para o gene *nifH*. Os dados obtidos pela amplificação do DNA extraído do solo foram interpolados para determinar o número de cópias dos genes em estudo.

A reação de PCR em Tempo Real, para cada gene, foi preparada em um volume final de 10 µL, contendo 5 µL do *SYBR Green ROX qPCR Master Mix* (Thermo Scientific), 5 pmol de cada *primers forward* e *reverse*, 1 µL de DNA da amostra teste e água ultrapura esterilizada.

Os dados de qPCR foram obtidos pelo StepOne Software 2.2.2 (Applied Biosystems), deste foram exportados para o programa Excel (Microsoft) onde foram calculadas as quantidades de cópias do gene para cada grama de solo seco.

3.2.5.3 Carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade enzimática do solo

A determinação do carbono da biomassa microbiana foi realizada por meio do método irradiação-extração proposto por Islam e Weil (1998) e adaptado por Barbosa (2015). A atividade enzimática da urease foi determinada segundo McGarity e Myers (1967). A atividade da desidrogenase no solo foi determinada segundo Casida et al. (1964). A atividade enzimática da amilase foi realizada conforme Barbosa (2015), onde a extração do substrato foi realizada pelo método de Cole (1977), posteriormente determinando-se o açúcar redutor pelo método de Somogyi (1952). A celulase foi analisada conforme método descrito por Kanazawa e Miyashita (1986) e pelo método dos açúcares redutores de Somogy-Nelson (SOMOGYI, 1952).

3.2.6 Processamento de dados e análise estatística

Os dados foram analisados, inicialmente, por meio da estatística descritiva (média, erro-padrão da média, desvio-padrão, mínimo, máximo, coeficiente de variação, assimetria e curtose). As análises de variância foram realizadas, utilizando o sistema SAS (SAS versão 9.1, SAS instituto, Cary, NC, EUA).

A dependência espacial foi analisada por meio de técnicas geoestatísticas, com estimativas de semivariogramas experimentais e ajustes de modelos permissíveis. Sob a pressuposição da hipótese intrínseca, o semivariograma foi estimado pela equação 3:

$$\hat{\gamma}(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [z(x_i + h) - z(x_i)]^2 \quad (3)$$

Em que, $N(h)$ é o número de pares experimentais de observações $Z(x_i)$ e $Z(x_i+h)$ separados por uma distância h .

No ajuste dos modelos matemáticos aos semivariogramas experimentais, foram estimados os parâmetros dos semivariogramas (efeito pepita, C_0 ; patamar, $C_0 + C_1$; e o alcance, a) para cada variável. O índice de dependência espacial (IDE) foi utilizado para a classificação da dependência espacial em fraca, moderada e forte de acordo com Seidel e Oliveira (2016). Este índice considera além dos valores de efeito pepita (C_0) e contribuição (C_1), o modelo do semivariograma, o valor de alcance (a) e a máxima distância entre pontos amostrais. A escolha do melhor ajuste ao semivariograma experimental baseou-se na menor soma do quadrado do resíduo, maior coeficiente de determinação (R^2) e na validação cruzada por meio do cálculo da raiz do erro quadrático médio (REQM) (ISAAKS; SRIVASTAVA, 1989; OLIVER; WEBSTER, 2014).

A estimativa da krigagem ordinária (KO) no ponto x_0 não amostrado é dada pela equação 4:

$$\hat{z}(x_0) = \sum_{i=1}^n \lambda_i z(x_i) \quad (4)$$

Em que, $\hat{z}(x_0)$ - a estimativa da KO no ponto x_0 , $z(x_i)$ os valores vizinhos nos locais $x_i, i = 1, 2, \dots, n$ e λ_i os pesos das observações associados aos valores vizinhos. Estes são estimados com base no semivariograma ajustado. A construção dos mapas de padrões espaciais (interpolação pela KO) foi realizada pelo programa SURFER versão 9.11.947 (Golden Software Inc, Golden, CO, EUA).

A FCO_2 e os dados analisados nas regiões R1 e R2 foram submetidos às análises exploratórias multivariadas de agrupamento por método hierárquico e componentes principais.

A análise de agrupamento por método hierárquico é um técnica multivariada exploratória que tem por finalidade reunir as unidades amostrais em grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre eles. A

estrutura de grupos contida nos dados é vista em um gráfico denominado dendrograma, construído com a matriz de semelhança entre as amostras (SNEATH; SOKAL, 1973). A matriz de semelhança foi construída com a distância euclidiana, e a ligação dos grupos foi feita com o método de Ward.

O teste T^2 de Hotelling's foi realizado para testar se há diferença significativa entre os grupos observados no dendrograma.

A análise de componentes principais (ACP) é também uma técnica multivariada exploratória que condensa a informação contida num conjunto de variáveis originais em um conjunto de menor dimensão, composto de novas variáveis latentes, preservando quantidade relevante da informação original.

As novas variáveis são os autovetores (componentes principais) gerados por combinações lineares das variáveis originais, construídos com os autovalores da matriz de covariância (HAIR et al., 2005).

Foram considerados os componentes principais cujos autovalores foram superiores à unidade, conforme o critério estabelecido por Kaiser (1958). Os coeficientes das funções lineares, que definem os componentes principais, foram utilizados na interpretação de seu significado, usando o sinal e o tamanho relativo dos coeficientes como uma indicação do peso a ser atribuído para cada variável. Somente coeficientes com altos valores foram considerados para a interpretação, usualmente aqueles maiores ou iguais a 0,70 em valor absoluto. As análises multivariadas foram processadas no programa Statistica 7.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK, USA).

3.3 Resultados e Discussão

O valor médio da FCO_2 ($2,91 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo do período de 28 dias (Tabela 2) foi similar ao observado por Iamaguti et al. (2015), em estudo também conduzido sob Latossolo em áreas de cana-de-açúcar e no preparo mais intenso do solo (convencional).

Em adição, os valores observados para a TS ($22,6^\circ\text{C}$) e US (16,95%) também corroboram os valores reportados em outros estudos realizados após a reforma do canavial (SILVA et al., 2013; SILVA-OLAYA et al., 2013). Tais valores condizem com as características das áreas em reforma, uma vez que o preparo do solo proporciona menores valores de umidade e temperaturas mais elevadas.

Tabela 2. Estatística descritiva dos atributos físicos e químicos avaliados na área de reforma.

Atributo	Média	EPM	DP	Mínimo	Máximo	CV	ASS	CURT
FCO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹)*	2,91	0,06	0,56	1,83	5,28	19,33	0,87	2,17
TS (°C)*	22,58	0,06	0,59	20,01	23,34	2,62	-1,81	4,4
US (%)*	16,95	0,17	1,74	13,90	21,10	10,29	0,49	-0,52
DS (g cm ⁻³)	1,33	0,01	0,09	1,08	1,57	6,91	-0,25	0,55
Macro (%)	11,08	0,48	4,80	1,95	24,62	43,35	0,75	0,17
Micro (%)	39,55	0,48	4,82	26,37	45,82	12,18	-1,21	0,78
VTP (%)	50,63	0,45	4,53	31,14	68,56	8,94	0,40	8,1
PLA (%)	33,68	0,51	5,09	12,34	54,46	15,10	0,00	6,38
Argila (%)	61,58	0,48	4,83	50,80	68,80	7,85	-0,58	-0,78
Silte (%)	20,23	0,34	3,36	14,96	34,23	16,62	1,29	2,36
Areia (%)	17,20	0,16	1,57	13,40	20,36	9,11	-0,23	-0,04
MOS (g dm ⁻³)	32,17	0,34	3,40	24,00	43,00	10,56	0,32	0,27
EstC (Mg ha ⁻¹)	48,08	0,59	5,85	32,40	63,49	12,99	0,10	-0,1
k (d ⁻¹)	0,0007	0,00	0,0002	0,0003	0,0012	23,03	0,7020	0,8224
pH (CaCl ₂)	5,01	0,03	0,26	4,40	5,50	5,23	-0,24	-0,37
P (mg dm ⁻³)	28,13	3,21	32,08	9,00	188,00	114,05	3,06	9,39
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,15	0,00	0,05	0,05	0,30	31,18	0,88	0,91
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	3,36	0,26	2,64	1,01	25,15	78,54	6,19	48,07
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,21	0,06	0,57	0,40	3,72	47,07	1,93	5,07
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,19	0,03	0,31	0,00	1,27	162,16	1,93	3,47
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	49,33	1,22	12,23	8,74	78,98	24,78	-0,36	0,74
SB (cmol _c dm ⁻³)	4,72	0,31	3,13	1,54	29,00	66,26	5,30	37,4
CTC _{Total} (cmol _c dm ⁻³)	8,88	0,29	2,88	6,48	31,77	32,46	5,62	40,84
V(%)	50,67	1,22	12,23	21,02	91,26	24,13	0,36	0,74

N = 100, exceto *(N = 900). EPM= erro-padrão da média; Mínimo = valor mínimo observado; Máximo = valor máximo observado; CV = coeficiente de variação (%); ASS = assimetria; CURT = curtose; FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; TS = temperatura do solo; US = umidade do solo; pH = potencial hidrogeniônico; H+Al = acidez potencial; Mg = teor de magnésio trocável; Ca = teor de cálcio trocável; K = teor de potássio trocável; P = teor de fósforo; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca catiônica; Al = teor de alumínio; V% = saturação por bases; MOS = matéria orgânica do solo; EstC = estoque de carbono do solo; k = constante de decaimento do carbono do solo; DS = densidade do solo; Macro = macroporosidade; Micro = microporosidade; VTP = volume total de poros; PLA = porosidade livre de água; Argila = teor de argila; Silte = teor de silte; Areia = teor de areia total.

O preparo do solo além de fracionar, incorpora ar ao solo, afetando seu regime de temperatura e acelerando o processo de secagem do mesmo (SILVA-OLAYA et al., 2013).

O preparo também mistura a camada superficial, mais fértil e rica em matéria orgânica com as camadas mais profundas do solo, tal efeito associado às melhores condições de aeração, umidade adequada e temperaturas elevadas, resulta em incrementos na FCO_2 devido as condições propícias para a atividade microbiana aeróbia na decomposição da matéria orgânica do solo (MACDONALD et al., 2010) e consequente liberação de CO_2 do solo para a atmosfera (LA SCALA et al., 2006; CHATSKIKH et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2010).

Em adição, somente a quebra dos agregados com as atividades mecânicas do preparo já proporciona maiores emissões, devido à liberação do CO_2 armazenado nas camadas mais profundas do solo, efeito geralmente observado em curtos períodos, que compreendem intervalos de 5 (REICOSKY et al., 2005) até 24 horas após o preparo do solo (KAINIEMI, 2014).

Os atributos físicos do solo e o crescimento das culturas também são afetados pelos sistemas de manejo (JI et al., 2013). A densidade do solo (DS) e a porosidade total refletem o impacto causado ao solo pelos sistemas de preparo e pelo tráfego de máquinas na área (KAINIEMI, 2014). Na área em estudo, o solo apresentou alta densidade ($1,33 \text{ g cm}^{-3}$). Ainda, observou-se um predomínio de microporos (39,55%) em relação ao número de macroporos (11,08%).

Quanto à porosidade, áreas agrícolas sob preparo convencional do solo tendem a apresentar maior macroporosidade e menor microporosidade (JI et al., 2013), o que pode ajudar a compreender os resultados referente a estes atributos no presente estudo, é a textura do solo, pois além do fato de que, esta não se altera com o manejo, solos de textura mais argilosa (61,58%) (Tabela 2), caracteristicamente apresentam maior microporosidade (BRADY; WEIL, 2012).

Em relação aos atributos químicos a área de reforma apresentou os seguintes valores médios para: MOS ($32,17 \text{ g dm}^{-3}$), EstC ($45,08 \text{ Mg ha}^{-1}$), pH (5,01), P ($28,13 \text{ mg dm}^{-3}$), K ($0,15 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), Ca ($3,36 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), Mg ($1,21 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), Al ($0,19 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), H+Al ($49,33 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), SB ($4,72 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), CTC ($8,88 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e V% (50,67) (Tabela 2).

A variação dos atributos do solo pode ser classificada em função do seu coeficiente de variação (CV) (Tabela 2). O valor do CV observado para a FCO_2 (19,33%) embora seja considerado moderado ($12\% < \text{CV} < 24\%$), conforme critério proposto por Warrick e Nielsen (1980), foi menor quando comparado aos altos valores observados para esta variável nos estudos realizados por Silva-Olaya et al. (2013) e Iamaguti et al. (2015) também conduzidos após reforma do canavial.

Em adição, os valores de CV encontrados para a Micro (12,18%), PLA (15,10%), Silte (16,62%), EstC (12,99%) também são considerados moderados ($12\% < \text{CV} < 24\%$). Para a TS (2,62%), US (10,29%), DS (6,91%), VTP (8,94%), Argila (7,85%), Areia (9,11%), MOS (10,56%) e pH (5,23%) são considerados baixos ($\text{CV} < 12\%$).

Já os valores do CV para o P (114,05%), K (31,18%), Ca (78,54%), Mg (47,07%), Al (162,16%), H+Al (24,78%), SB (66,26%), CTC (32,46%) e V% (24,13%) são considerados altos ($\text{CV} > 24\%$) (Tabela 2). Interessante ressaltar que grande parte destes atributos listados pelo alto CV são afetados pelo manejo químico do solo.

Os elevados valores de CV verificados para alguns atributos sugerem alta heterogeneidade em torno da média. Referida heterogeneidade pode ter várias causas, dentre as quais merecem destaque: acúmulo e distribuição das partículas do solo em função da forma do relevo e do fluxo de água, e falta de homogeneidade durante o manejo químico na aplicação dos corretivos do solo na área total. Considerando que a área do presente estudo apresenta relevo suave com declividades menor que 0,5%, possivelmente o manejo químico pode ajudar a compreender a alta variabilidade de alguns atributos químicos do solo.

Os métodos estatísticos clássicos geralmente utilizam uma medida central (média) e uma medida de dispersão (variância) para descrever determinado atributo do solo, considerando que a variabilidade do solo ocorre de forma inteiramente aleatória e admitindo-se que seus atributos apresentem distribuição de frequência normal (VIEIRA et al., 2000). Entretanto, vários estudos demonstraram que os atributos do solo apresentam dependência espacial (MONTANARI, 2010; PANOSSO et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2012; BICALHO et al., 2014) sendo, portanto, necessária a utilização de técnicas geoestatística para a captura do padrão espacial desses atributos (PANOSSO et al., 2011).

Diante desse fato, no presente estudo foi realizada a análise geoestatística e os modelos e parâmetros ajustados aos semivariogramas experimentais dos atributos do solo encontram-se na Tabela 3.

Os modelos ajustados aos semivariogramas foram, em sua maioria, esféricos, com exceção para Argila e Silte que apresentaram modelo exponencial (Tabela 3). Os modelos exponenciais são mais bem ajustados a fenômenos erráticos na pequena escala, enquanto os modelos esféricos descrevem propriedades com alta continuidade espacial, ou menos erráticos na curta distância (ISAAKS; SRIVASTAVA, 1989).

Tabela 3. Modelos e parâmetros ajustados aos semivariogramas experimentais dos atributos do solo.

Atributo	Modelo	C ₀	C ₀ +C ₁	IDE	a	SQR	R ²	REQM
FCO ₂	Esf.	1,56E-01	2,57E-01	Fraca	26,74	6,33E-05	0,97	0,49
TS	Esf.	1,51E-01	2,30E-01	Fraca	25,27	9,44E-05	0,89	0,46
US*	Esf.	5,45E-03	8,34E-03	Moderada	53,74	8,86E-07	0,80	1,52
Densidade	Esf.	4,84E-03	7,52E-03	Fraca	32,35	4,25E-07	0,79	0,08
Macro	Esf.	7,28E+00	1,61E+01	Moderada	24,31	2,42E+00	0,74	3,92
Micro	Esf.	1,36E+01	2,13E+01	Moderada	38,02	5,50E-01	0,98	4,40
VTP	Esf.	3,01E+00	7,00E+00	Moderada	36,97	2,27E-01	0,97	2,34
PLA	Esf.	7,42E+00	1,67E+01	Moderada	45,00	8,80E-01	0,98	4,08
Argila	Exp.	5,02E+00	2,43E+01	Moderada	24,60	5,03E+00	0,87	4,78
Silte	Exp.	1,94E+00	7,55E+00	Moderada	22,32	5,56E-02	0,99	2,70
Areia Total	Esf.	3,78E-01	2,46E+00	Forte	53,98	9,79E-02	0,95	1,22
MOS	Esf.	6,89E+00	1,05E+01	Fraca	30,87	5,47E-01	0,89	3,18
EstC	Esf.	1,38E+01	2,87E+01	Moderada	26,06	1,75E+00	0,96	5,07
K	Esf.	8,50E-09	1,64E-08	Fraca	21,19	1,67E-18	0,84	0,00
pH	Esf.	3,11E-02	5,71E-02	Fraca	23,20	8,39E-06	0,95	0,23
P*	Esf.	2,16E-02	2,49E-01	Forte	28,20	4,81E-03	0,69	12,86
K	Esf.	8,67E-04	2,02E-03	Moderada	22,32	8,37E-08	0,67	0,05
Ca*	Esf.	8,44E-02	1,44E-01	Moderada	29,77	6,98E-05	0,92	1,36
Mg*	Esf.	8,10E-02	1,61E-01	Moderada	25,51	1,57E-05	0,99	0,48
Al*	Esf.	2,00E-02	5,57E-02	Moderada	24,06	3,39E-05	0,85	0,30
H+Al	Esf.	6,90E+01	1,15E+02	Fraca	25,37	2,64E+01	0,90	10,58
SB*	Esf.	7,01E-02	1,37E-01	Fraca	23,19	1,29E-04	0,85	1,86
CTC*	Esf.	3,86E-03	2,85E-02	Moderada	23,74	1,21E-06	0,99	1,56
V%	Esf.	7,95E+01	1,39E+02	Fraca	27,55	1,11E+02	0,83	11,22

N = 100; * = transformação logarítmica; C₀ = efeito pepita; C₀ + C₁ = patamar; a = alcance (m); IDE = índice de dependência espacial classificado segundo Seidel & Oliveira (2016); SQR = soma dos quadrados dos resíduos; R² = coeficiente de determinação do ajuste; REQM = Raiz do erro quadrático médio obtido por meio da validação cruzada; FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; TS = temperatura do solo; US = umidade do solo; pH = potencial hidrogeniônico; H+Al = acidez potencial; Mg = teor de magnésio trocável; Ca = teor de cálcio trocável; K = teor de potássio trocável; P = teor de fósforo; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca catiônica; Al = teor de alumínio; V% = saturação por bases; M% = saturação por alumínio; MOS = matéria orgânica do solo; EstC = estoque de carbono do solo; DS = densidade do solo; Macro = macroporosidade; Micro = microporosidade; VTP = volume total de poros; PLA = porosidade livre de água; Argila = teor de argila; Silte = teor de silte; Areia = teor de areia total.

Diversos modelos são utilizados para descrever a variabilidade espacial da FCO₂, sendo os modelos esféricos (LA SCALA et al., 2000; ISHIZUKA et al., 2005; KOSUGI et al., 2007; KONDA et al., 2010; LA SCALA et al., 2010; HERBST et al.,

2012; TAVARES et al., 2016) ou alternâncias entre modelos esféricos e exponenciais, (TEDESCHI et al., 2006; OHASHI; GYOKUSEN, 2007) os mais utilizados.

Os alcances dos atributos do solo dos modelos ajustados aos semivariogramas experimentais apresentaram pequenas mudanças variando de 22,3 a 35 m, exceto para os atributos US (53,7 m), Micro (38 m), VTP (37 m), PLA (45 m) e Areia (54 m) (Tabela 3).

O maior valor de alcance da estrutura de variabilidade espacial, indica uma distribuição com maior continuidade espacial. Alterações nos alcances dos modelos de variabilidade espacial de FCO_2 têm sido observadas entre estações do ano (SOTTA et al., 2006; OHASHI; GYOKUSEN, 2007), meses (STOYAN et al., 2000), após eventos de precipitação (LA SCALA et al., 2000; HU et al., 2011), ou mesmo de acordo com o tamanho da malha amostral (KONDA et al., 2008; HERBST et al. 2009).

Os padrões espaciais (mapas) da FCO_2 e demais atributos do solo (Figura 2) indicam a existência de uma subdivisão (parte superior e parte inferior) da área estudada em relação à FCO_2 , aos macroporos (Macro), a porosidade livre de água (PLA), ao teor de silte (Silte), a matéria orgânica do solo (MOS), as bases (K, Ca e Mg) e a constante de decaimento do carbono do solo (k), esta última já esperada, uma vez que a constante k foi determinada a partir da emissão de CO_2 do solo (C- CO_2).

Vale ressaltar que a semelhança nos padrões espaciais destes atributos indica uma relação entre os mesmos.

A estrutura espacial dos atributos do solo pode ser afetada por inúmeros fatores de uma forma altamente complexa devido à covariação espacial e temporal entre os fatores influenciadores (FÓTI et al., 2016).

Em adição, as práticas de manejo do solo também contribuem para aumentar a variabilidade dos atributos, uma vez que afetam as características do mesmo (PANOSSO et al., 2009). As diferentes práticas agrícolas induzem a heterogeneidade espacial, principalmente, ao afetar a capacidade de retenção de carbono, água e nutrientes (HERBST et al., 2012; FÓTI et al., 2016).

Neste contexto, conforme observado a partir da visualização dos mapas, a relação direta de FCO_2 com: PLA, Macro, MOS, Ca e Mg, provavelmente deve-se as atividades de reforma do canal. O preparo do solo aumenta a porosidade total (KAINIEMI, 2014).

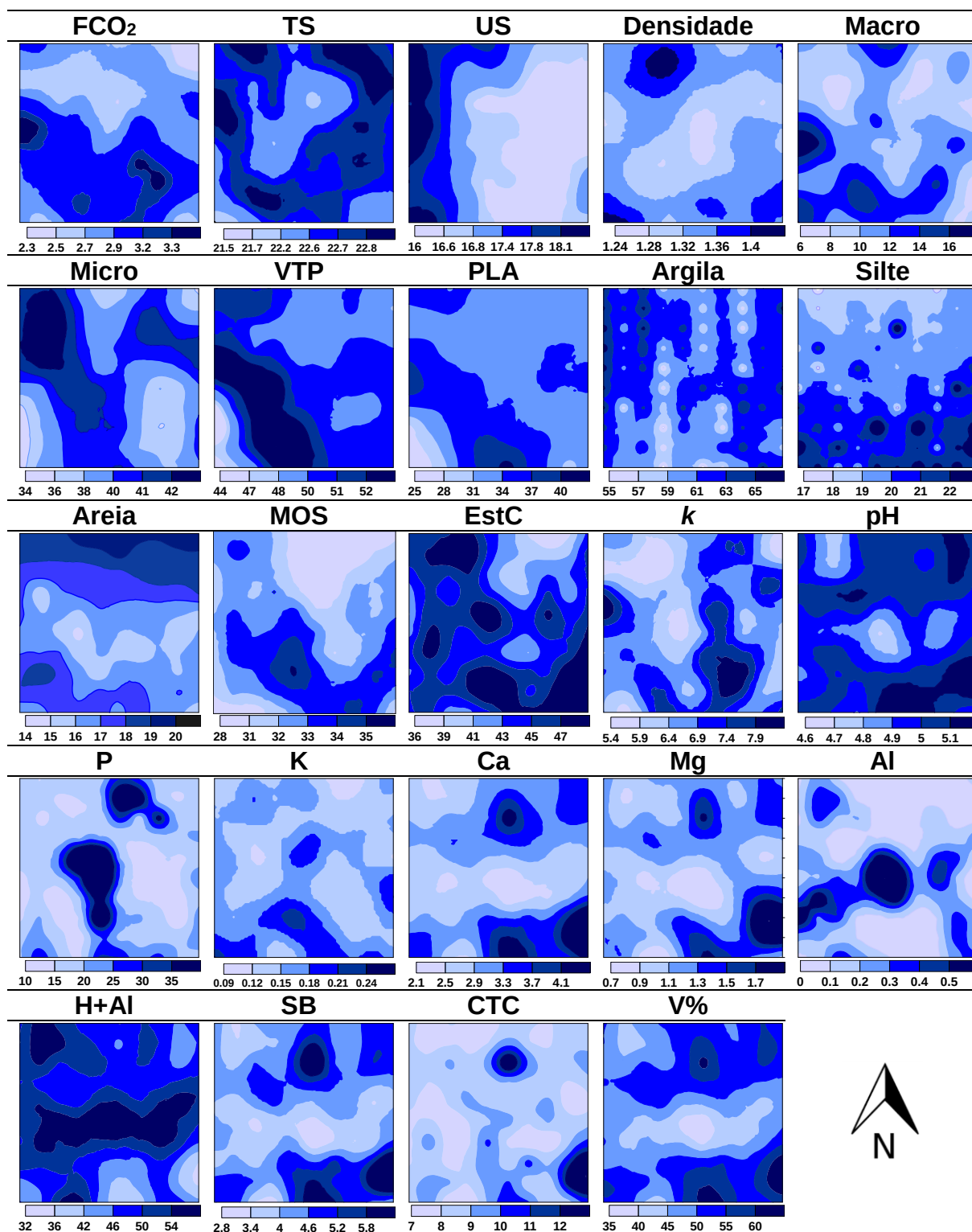


Figura 2. Distribuição espacial dos atributos do solo. FCO₂ = emissão de CO₂ do solo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); TS = temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$); US = umidade do solo (%); pH = potencial hidrogeniônico; H+Al = acidez potencial ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Mg = teor de magnésio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Ca = teor de cálcio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); K = teor de potássio trocável ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); P = teor de fósforo (mg dm^{-3}); SB = soma de bases ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); CTC = capacidade de troca catiônica ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); Al = teor de alumínio ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$); V% = saturação por bases (%); M% = saturação por alumínio (%); MOS = matéria orgânica do solo (g dm^{-3}); EstC = estoque de carbono do solo (Mg ha^{-1}); k = constante de decaimento do carbono do solo ($\text{d}^{-1} \times 10^{-4}$); DS = densidade do solo (g/cm^3); Macro = macroporosidade (%); Micro = microporosidade (%); VTP = volume total de poros (%); PLA = porosidade livre de água (%); Argila = teor de argila (%); Silte = teor de silte (%); Areia = teor de areia total (%).

Em adição, as práticas de correção do solo induzem a elevação nos teores de Ca e Mg (PRIMAVESI et al., 2006; BRADY; WEIL et al., 2012). Tais características promovem condições favoráveis a decomposição da MOS e, conseqüentemente, ao aumento da FCO₂.

Além disso, a calagem realizada previamente as operações de preparo contribui para elevar as emissões de CO₂ do solo devido à dissolução química do carbonato, liberando bicarbonato (2HCO₃⁻), que evolui para CO₂. Além das mudanças nos processos biológicos que aumentam a mineralização do carbono orgânico do solo em resposta ao aumento do pH (BAILEY; SMITH; BOLTON, 2002; FUENTES et al., 2006).

Ainda, a relação espacial direta observada entre a MOS e a FCO₂, decorre do fato de que a matéria orgânica representa o principal reservatório de energia para os microrganismos (SIQUEIRA; MOREIRA et al., 2006; LAL, 2009). Portanto, a maior oferta de energia para o metabolismo microbiano resulta no incremento da liberação de CO₂ para a atmosfera.

De acordo com Herbst et al. (2012), em solos desprovidos de vegetação suas propriedades texturais podem contribuir para a variação espacial e temporal da emissão de CO₂, uma vez que as propriedades texturais do solo condicionam a variabilidade espacial dos teores de água no solo. Assim como no presente estudo, os autores também observaram relação entre a FCO₂ e o teor de silte.

Em relação à US observa-se uma divisão da área em Leste e Oeste. Já quanto a TS observa-se certa homogeneidade ao longo da área, exceto por uma região central. A partir dos mapas, não foi possível observar relação da FCO₂ com a TS e a US. Vários autores afirmam que a contribuição desses fatores não é tão grande quando analisamos a variabilidade espacial da FCO₂ (YIM et al., 2003; TEDESCHI et al., 2006). A temperatura do solo é caracterizada como um dos principais impulsionadores da variabilidade temporal da respiração do mesmo (PETRONE et al., 2008; CHEN et al., 2010; GRAF et al., 2012). No entanto, sua covariação com a umidade do solo mascara a correlação espacial entre a respiração e a temperatura do solo (HERBST et al., 2009; 2012; FÓTI et al., 2016).

A exemplo da área em estudo, sem a presença de plantas, a respiração do solo é decorrente exclusivamente da atividade da microbiota (HERBST et al., 2012). Fato

este aumenta a variabilidade do fluxo de gases de efeito estufa no solo, a exemplo do CO₂, uma vez que esses gases são produzidos ou consumidos por uma grande variedade de organismos (KUZYAKOV, 2006).

Neste contexto, a maioria dos estudos sobre variação da emissão de CO₂ observa relações com a atividade microbiana (KONDA et al., 2010), biomassa microbiana e teor de matéria orgânica (XU; QI, 2001), variações da biomassa dos organismos vivos e mortos associados à porosidade total do solo (FANG et al., 1998).

Embora o padrão espacial da diversidade de microrganismos do solo seja frequentemente associado com a vegetação presente no ecossistema (HOOPER et al., 2000), as alterações que ocorrem no ambiente, principalmente aquelas associadas as práticas de manejo físico-químico do solo afetam significativamente a comunidade microbiológica do mesmo (PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2015; JIMÉNEZ-BUENO et al., 2016).

Após o mapeamento da FCO₂ e identificadas duas regiões, R1 e R2 (Figura 3a), na área de estudo com diferentes potenciais de emissão, determinou-se a abundância dos genes 16S rRNA de *Bacteria*, *pmoA* e *nifH* (Figuras 3b, 3c e 3d), além da atividade enzimática da desidrogenase, amilase, urease, celulase, carbono da biomassa microbiana e relação C/N do solo (Figura 4).

Não houve diferença significativa para o número de cópias do gene 16S rRNA de *Bacteria* quando comparadas as regiões R1 ($4,3 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ de solo) e R2 ($3,1 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ de solo) (Figura 3b).

Desta forma, a abundância de microrganismos presente no solo das respectivas regiões foi semelhante. O mesmo ocorreu em relação ao número de cópias do gene *nifH* associado ao ciclo de N, em R1 ($823,33 \text{ g}^{-1}$ de solo) e R2 ($3.541,67 \text{ g}^{-1}$ de solo) (Figura 3d).

Contudo, quando avaliada a abundância do gene *pmoA* relacionado ao ciclo do carbono, houve diferença ($p < 0,01$) entre R1 ($9,5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$ de solo) e R2 ($2,9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$ de solo) (Figura 3c). Os resultados indicam que o padrão espacial da FCO₂ nas regiões R1 e R2 pode não estar relacionado diretamente com a quantidade total da comunidade microbiana (16S rRNA) presente no solo, mas sim, com a função específica que os microrganismos desempenham em relação a degradação do carbono no solo (*pmoA*).

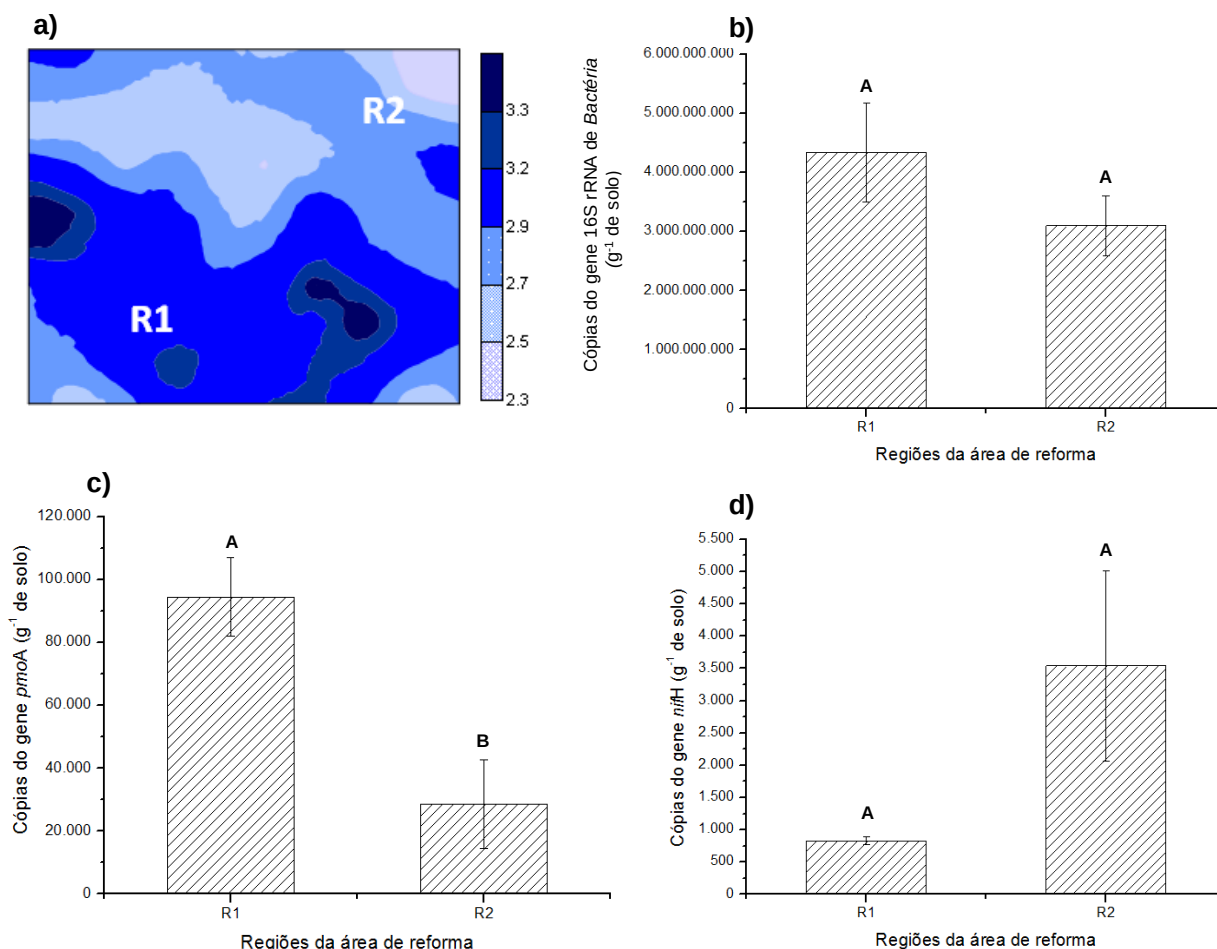


Figura 3. Distribuição espacial da FCO₂ (μmol m⁻²s⁻¹) com identificação de duas regiões distintas na área de reforma (R1 e R2) (a), representação gráfica destas duas regiões com a média ± erro-padrão da média do número de cópias dos genes 16S rRNA de *Bacteria* (b), *pmoA* (c) e *nifH* (d). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste t de *Student* (p<0,01).

As populações de microrganismos possuem um papel essencial na reciclagem dos elementos químicos do solo controlando a dinâmica da decomposição e estabilização do carbono (SIX et al., 2006), e consequentemente, os padrões de variabilidade espaço-temporal da emissão de CO₂ do solo para a atmosfera.

Ainda, a diversidade funcional e a estrutura das comunidades microbianas do solo são de particular importância para o funcionamento dos solos, como um ecossistema (BORGES et al., 2013; ARAÚJO et al., 2014).

Neste sentido, o gene *pmoA* tem sido muito utilizado para a detecção da presença de bactérias metanotróficas no solo, essas possuem a habilidade de usar metano como única fonte de carbono e energia e consequentemente, desempenham

um importante papel no ciclo global do carbono, sendo potenciais agentes biodegradadores (LUESKEN et al., 2011).

A determinação das enzimas presentes do solo também indica a diversidade funcional da comunidade microbiana (CORDEIRO et al., 2012), uma vez que as enzimas no solo são na sua maioria produzidas a partir de microrganismos.

A atividade enzimática apresenta grande potencial para indicar as transformações biológicas do solo em resposta às mudanças no manejo do mesmo, por serem sensíveis ao seu manejo e por estarem diretamente relacionadas com as transformações dos nutrientes (YANG et al., 2008).

No presente estudo, com exceção da atividade enzimática da celulase (Figura 4d), foram observadas diferenças significativas ($p < 0,01$) para a atividade enzimática da desidrogenase (Figura 4a), urease (Figura 4b) e amilase (Figura 4c) quando comparadas as regiões R1 e R2.

A atividade enzimática da desidrogenase foi maior em R1 ($33,02 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{SS } 24 \text{ h}^{-1}$) do que em R2 ($22,90 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{SS } 24 \text{ h}^{-1}$) (Figura 4a). Cabe ressaltar que R1 também foi a região que apresentou maior FCO_2 (Figura 3a).

A desidrogenase ocorre intracelularmente em todas as células vivas dos microrganismos, e uma característica importante dessa enzima é não se acumular extracelularmente no solo, ou seja, está presente somente em organismos vivos e ativos (SALAZAR et al., 2011).

A determinação da atividade enzimática da urease também é importante para a compreensão do padrão espacial da FCO_2 , uma vez que a urease é uma enzima responsável por catalisar a hidrólise de exoenzimas da ureia para formar dióxido de carbono (CO_2) e amônio (SAMBORSKA; STEPNIEWSKA; STEPNIEWSKI, 2004).

O fato de ser estabelecida diferença ($p < 0,01$) entre as regiões R1 ($41,15 \mu\text{g NH}_4 \text{ N/3h.g SS}$) e R2 ($31,07 \mu\text{g NH}_4 \text{ N/3h.g SS}$) (Figura 4b), havendo portanto, maior biossíntese da urease em R1, reforça a discussão acerca da variabilidade da FCO_2 em função do maior e menor potencial de emissão se relacionar as características microbianas do solo nessas respectivas áreas.

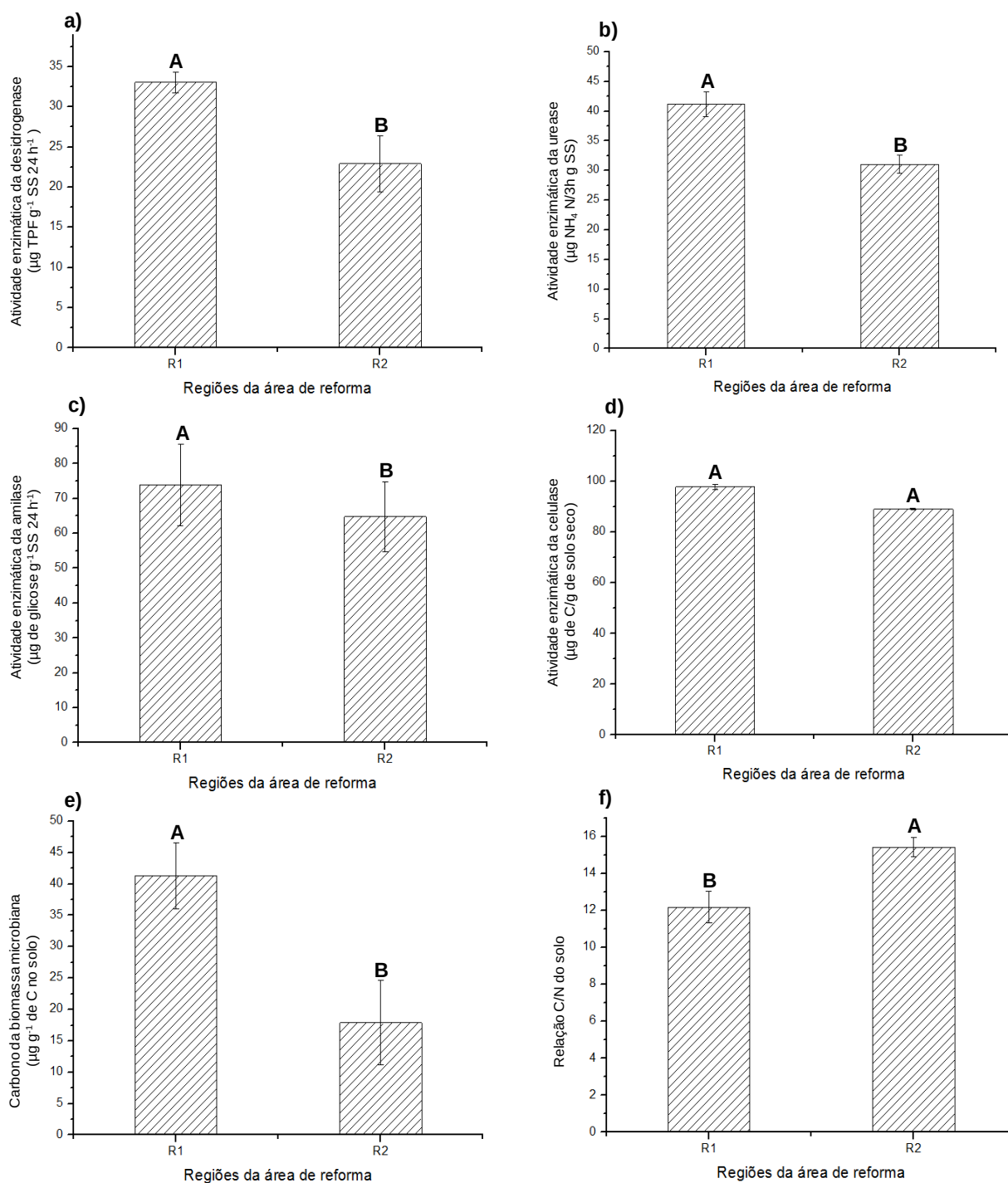


Figura 4. Média $\pm$ erro-padrão da média da atividade enzimática da desidrogenase (a), urease (b), amilase (c) e celulase (d), carbono da biomassa microbiana (e) e relação C/N do solo (f) nas regiões da área de reforma (R1 e R2). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste t de *Student* ($p < 0,01$).

A atividade enzimática da amilase também foi maior em R1 (73,84 μg de glicose g^{-1} SS 24 h^{-1}) quando comparada a R2 (64,81 μg de glicose g^{-1} SS 24 h^{-1}) (Figura 4c).

As amilases dentre as demais enzimas, sintetizadas na sua maioria por microrganismos do solo, são responsáveis pela mineralização da MOS (SAMIE et al., 2012), ou seja, neste processo de transformação da matéria orgânica, por exemplo, o carbono das moléculas de carboidratos é liberado na forma de dióxido de carbono (CO_2) (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006) o que explica a maior atividade desta enzima na região R1 que apresentou maior FCO_2 .

A celulase é uma enzima responsável por catalisar a hidrólise da celulose, sendo parcialmente responsável pela taxa e processo de decomposição da serrapilheira (PANCHOLY; RICE, 1973).

O aumento desta enzima no solo indica que houve a entrada de substrato enriquecido em celulose no agrossistema (MARCHIORI JR.; MELO, 1999).

O fato da celulase não diferir entre as regiões em estudo (Figura 4d) pode ser um indicativo que o material residual (palhiço e raízes mortas) da cultura da cana-de-açúcar foi incorporado ao solo de forma homogênea no momento do preparo (Figura 1b), e portanto, não ocorreu favorecimento de determinação região em detrimento a outra em relação a incorporação desses resíduos ao solo.

O carbono associado a biomassa microbiana do solo (CBM) representa a fração ativa e biodegradável da MOS, sendo parcialmente composto por diversas espécies de microrganismos, tais como: fungos, bactérias, protozoários, nematoides e algas que atuam como agentes na mineralização da matéria orgânica (HUNGRIA et al., 2009).

No presente estudo houve diferença significativa ($p < 0,01$) para o CBM entre as regiões R1 (41,35 $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo) e R2 (17,87 $\mu\text{g g}^{-1}$ de C no solo) (Figura 4e).

Portanto, a região R1 que apresentou maior potencial para a emissão de CO_2 (Figura 3a), também apresenta a maior fração ativa da MOS, sendo essa, 131% maior em R1 quando comparada a R2.

Em contrapartida, a relação C/N (carbono/nitrogênio) do solo foi menor em R1 (12,18) quando comparada a R2 (15,43) (Figura 4f). A dinâmica da atividade microbiana, dentre outros fatores, é regulada pela relação C/N, uma vez que a relação entre esses dois elementos no solo, interfere no grau de humificação e estabilidade

da MOS (DORODNIKOV et al., 2011).

O fato dessa relação ser mais baixa em R1, indica que o processo de decomposição da matéria orgânica é mais acelerado nesta região.

Os resultados até então obtidos pela análise de variância (ANOVA) indicam que existem diferenças entre as regiões R1 e R2 quando avaliados os atributos microbiológicos do solo univariadamente (Figuras 3 e 4). Em adição, o fato da FCO_2 também ser maior em R1 e menor em R2 (Figura 3a) permitiu estabelecer relações indiretas.

Contudo, sabe-se que a caracterização de um padrão ou comportamento depende das diversas interações entre os fatores avaliados. Neste contexto, as análises multivariadas dos dados podem ser muito eficientes, pois permitem a visualização de correlações naturais e de múltiplas influências sobre um comportamento, principalmente quando se utilizam técnicas multivariadas de interdependência, ou seja, quando nenhuma variável ou grupo é tratada como dependente ou independente (HAIR et al., 2005).

Desta forma, quando realizada a análise multivariada de agrupamento pelo método hierárquico, o gráfico dendrograma construído a partir das amostras da FCO_2 e dos atributos microbiológicos avaliados neste estudo, reafirmou a existência de dois grupos: Grupo 1 (R2), ligados a uma menor distância euclidiana e Grupo 2 (R1), ligados a uma maior distância euclidiana (Figura 5).

Em adição, quando realizado o teste T^2 de Hotelling's foi observado efeito significativo ($F=150,76$; $p=0,007$), confirmando que R1 e R2 são realmente grupos distintos.

Cabe ressaltar que as técnicas de análise multivariada somente serão eficientes caso exista uma estrutura de correlação entre as variáveis (HAIR et al., 2005). No presente estudo, essa estrutura pode ser visualizada na Figura 6 e Tabela 4.

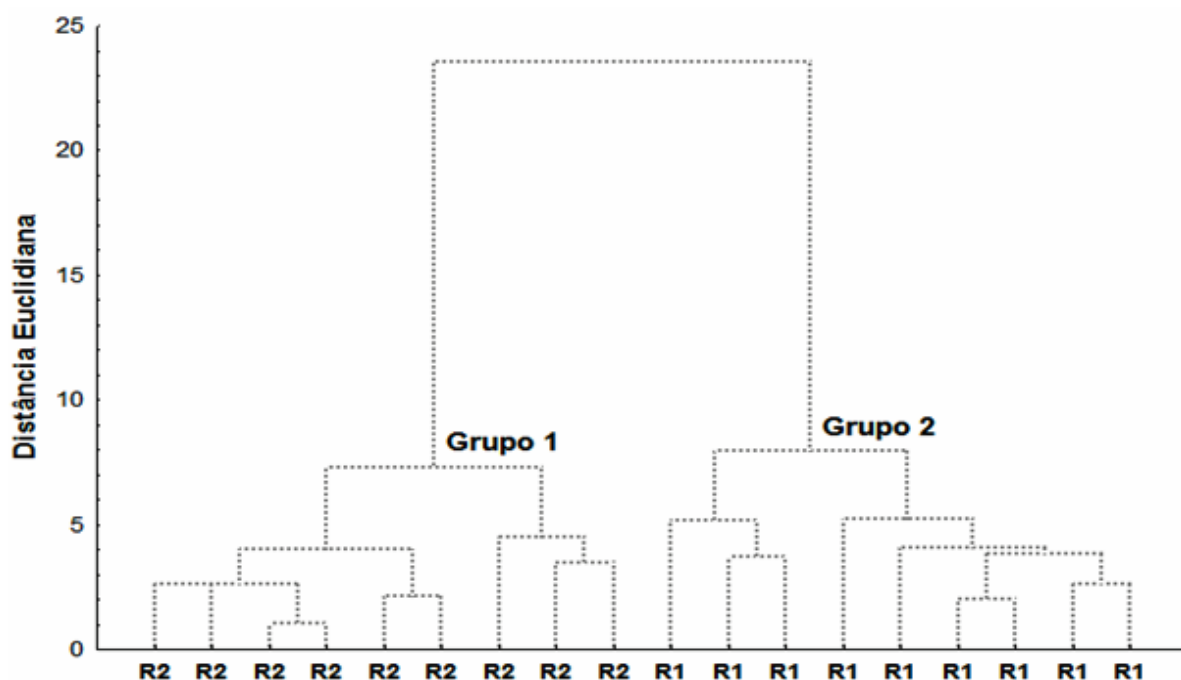


Figura 5. Dendrograma mostrando a hierarquia de grupos (regiões da área de reforma) resultante da análise de agrupamento por método hierárquico.

Na Figura 6, observa-se o gráfico biplot com os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) e a variância a eles atribuída encontra-se na Tabela 4.

O componente principal 1 (CP1) representa 64,11% e o segundo componente principal (CP2) representa (12,13%) da variância total dos dados originais (Figura 6).

Todos os atributos avaliados ficaram retidos em CP1 conforme critério de corte ($>0,70$ em valor absoluto) considerado para interpretação do componente principal (Tabela 4).

Em CP1, existe uma relação de dependência direta entre a atividade das enzimas: desidrogenase (0,73), urease (0,85), amilase (0,70), o carbono da biomassa microbiana (0,75), a FCO_2 (0,76) e o gene funcional *pmoA* (0,88), todos projetados para a mesma direção das amostras provenientes da região R1 (lado direito do plano bidimensional).

Em contrapartida, existe uma relação de dependência indireta desses atributos com a relação C/N do solo (-0,86), localizada na direção oposta e onde também estão as amostras da região R2 (lado esquerdo do plano bidimensional) (Figura 6 e Tabela 4).

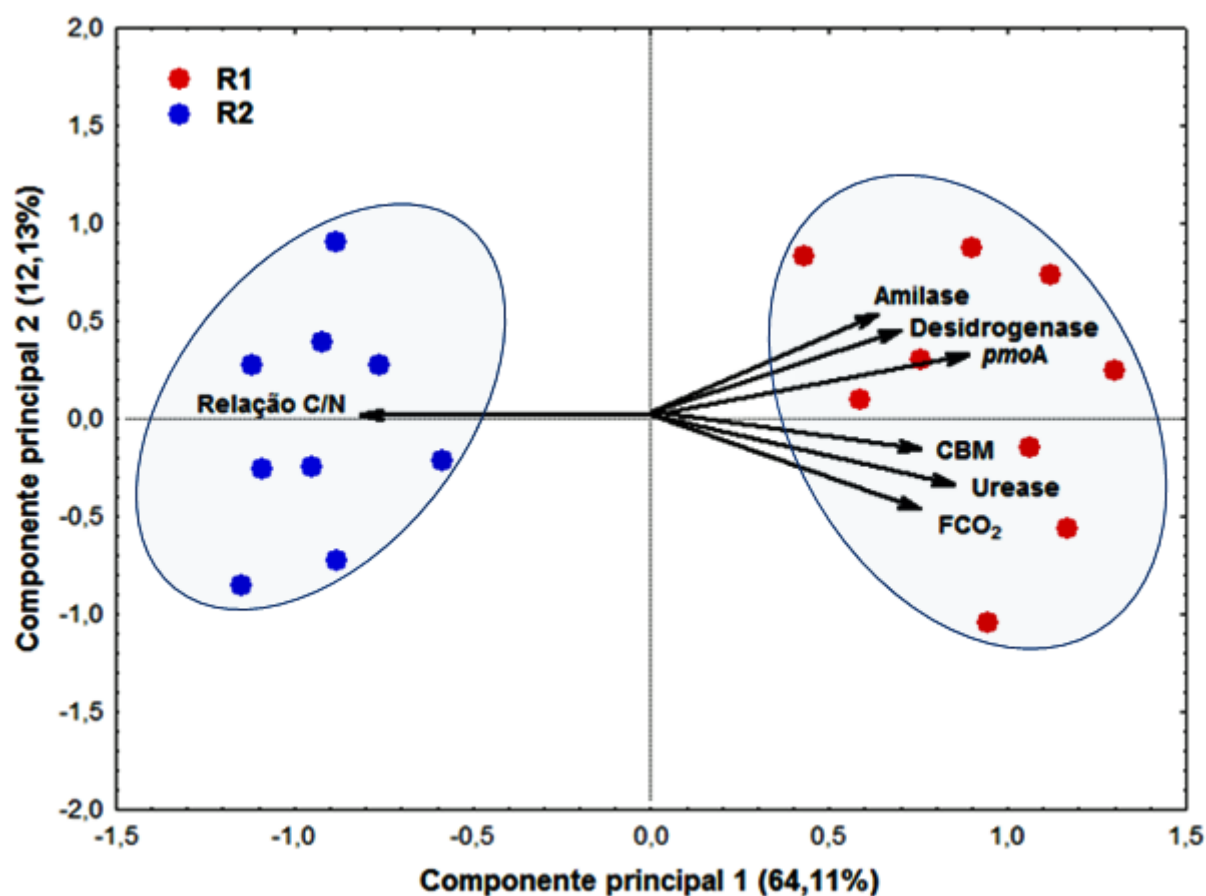


Figura 6. Gráfico biplot contendo os atributos do solo e as regiões avaliadas. Urease = Atividade enzimática da urease; CBM = Carbono da biomassa microbiana; *pmoA* = gene funcional *pmoA*; FCO₂ = emissão de CO₂ do solo; Desidrogenase = atividade enzimática da desidrogenase; Amilase = atividade enzimática da amilase e Relação C/N do solo.

Tabela 4. Correlação entre os atributos do solo e os dois primeiros componentes principais (CP1-CP2).

Componente principal	CP1	CP2
Variância explicada (%)	64,11*	12,13*
Correlações		
Atividade enzimática da desidrogenase	0,73	0,43
Atividade enzimática da urease	0,85	-0,32
Atividade enzimática da amilase	0,70	0,51
Carbono da biomassa microbiana (CBM)	0,75	-0,16
Emissão de CO ₂ do solo (FCO ₂)	0,76	-0,46
Gene <i>pmoA</i>	0,88	0,29
Relação C/N do solo	-0,86	-0,03
Interpretação de CP1	Potencial da FCO ₂ em função da diversidade microbiana do solo	

*Valor referente à porcentagem da variação do conjunto original dos dados retida pelos respectivos componentes principais. Correlações em negrito (>0,70 em valor absoluto) foram consideradas na interpretação do componente principal.

Tais relações indicam que o processo que ocorre em CP1 pode estar relacionado ao potencial da emissão de CO₂ do solo nas regiões R1 e R2. Portanto, para fins de interpretação do CP1, esse pode ser denominado de potencial da FCO₂ em função da diversidade microbiana do solo.

Essa interpretação decorre do fato de que, existe uma estreita relação entre o padrão espacial da FCO₂ e a dinâmica da microbiota do solo. Sendo essa dinâmica regulada pela relação C/N, ou seja, o conteúdo prontamente disponível de C, que assim como o pH do solo, tem sido descrita na literatura como controladora da estrutura taxonômica e funcional da microbiota (ROUSK et al., 2010; TRIPAHTI et al., 2012; CHODAK et al., 2013).

Em adição, boas condições de aeração, suprimento nutricional, umidade e temperatura do solo adequadas, a exemplo das condições do solo na área de estudo (Tabela 2), ao favorecerem a diversidade de microrganismos no solo (Figura 3) e a biodegradação da matéria orgânica estimulam a síntese das enzimas no solo (Figura 4).

Neste contexto, o conjunto das atividades conduzidas na área em reforma que incluem tanto o preparo convencional com a incorporação dos resíduos, quanto a correção do solo, certamente afetaram a diversidade de microrganismos do solo e conseqüentemente os valores da FCO₂, propiciando condições para o estabelecimento das regiões R1 e R2.

Desta forma, o fato da região R1 apresentar maior potencial para FCO₂ quando comparada a região R2 (Figura 3a) pode estar associado a maior atividade microbiana do solo em R1 (Figura 3c; Figuras 4a, 4b, 4c e 4e) favorecida pelas condições de menor relação C/N (Figura 4f), e melhor estado nutricional, verificado pelo maior teor de MOS, Ca e Mg (Figura 2), além de melhores condições de aeração do solo, devido ao maior percentual de macroporos e porosidade livre de água em R1 (Figura 2).

3.4 Conclusões

Em áreas sob reforma do canavial, os padrões espaciais da emissão de CO₂ do solo são similares aos atributos: macroporos, porosidade livre de água, teor de silte, matéria orgânica e constante de decaimento do carbono do solo. Nessa mesma área foram observadas regiões com potencial distintos para a emissão de CO₂ do

solo, e o estabelecimento dessas regiões foi associado com a dinâmica da atividade microbiana regulada pela abundância do gene *pmoA* (relacionado ao ciclo do carbono), com a atividade das enzimas: desidrogenase, urease e amilase, com o carbono associado a biomassa microbiana e a relação C/N do solo.

Considerando que um dos grandes desafios para os novos rumos da agricultura mundial é aumentar a eficiência de práticas convencionais de manejo do solo, o presente estudo reforça a importância de se conhecer o padrão espacial dos atributos do solo e como estes influenciam na dinâmica da emissão de CO₂ em áreas agrícolas visando futuras ações mitigadoras, nas quais possam envolver atividades menos intensas de preparo e aplicações mais comedidas e homogêneas de insumos no solo, que além de reduzir os custos de produção, diminuem a contribuição dessas atividades para a emissão adicional de CO₂ durante o período da reforma do canavial.

3.5 Referências

ARAÚJO, A. S.; BORGES, C. D.; TSAI, S. M.; CESARZ, S.; EISENHAUER, N. Soil bacterial diversity in degraded and restored lands of Northeast Brazil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 106, n. 5, p. 891–899, 2014.

BAILEY, V. L.; SMITH, J. L.; BOLTON, H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 7, p. 997–1007, 2002.

BAKKE, I.; DE SCHRYVER, P.; BOON, N.; VADSTEIN, O. PCR-based community structure studies of bacteria associated with eukaryotic organisms: A simple PCR strategy to avoid co-amplification of eukaryotic DNA. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 84, n. 2, p. 349–351, 2011.

BARBOSA, M. A. **Atributos microbiológicos do solo em sistemas de manejo de longa duração**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; MIRANDA, J. G. V.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial variability structure of soil CO₂ emission and soil attributes in a sugarcane area. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 189, p. 206–215, 2014.

BORGES, C. D.; CORÁ, J. E.; BARBOSA, J. C.; NAHAS, E. Soil microbiological attributes under summer/winter crops rotation in a no-tillage system. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Abingdon, v. 59, n. 11, p. 1471–1485, 2013.

BOT, A.; BENITES, J. **The importance of soil organic matter - key to drought resistant soil and sustained food and production**. Rome: FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. 95 p. (FAO. Documentos, Soils Bulletin 80).

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3. ed. São Paulo: Bookman, 2012. 720 p.

BRODY, J. R.; CALHOUN, E. S.; GALLMEIER, E.; CREAVALLE, T. D.; KERN, S. E. Ultra-fast high-resolution agarose electrophoresis of DNA and RNA using low-molarity conductive media. **BioTechniques**, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 598–602, 2004.

CANNAVAN, F. S. **Diversidade das comunidades bacterianas em solos de terra preta antropogênica da Amazônia Central e Oriental**. 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura, Piracicaba, 2007.

CARNEY, K. M.; MATSON, P. A. The influence of tropical plant diversity and composition on soil microbial communities. **Microbial Ecology**, New York, v. 52, n. 2, p. 226–238, 2006.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v. 98, n. 6, p. 371–376, 1964.

CHATSKIKH, D.; OLESEN, J. E.; HANSEN, E. M.; ELSGAARD, L.; PETERSEN, B. M. Effects of reduced tillage on net greenhouse gas fluxes from loamy sand soil under winter crops in Denmark. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 128, n. 1–2, p. 117–126, 2008.

CHEN, X.; DHUNGEL, J.; BHATTARAI, S. P.; TORABI, M.; PENDERGAST, L.; MIDMORE, D. J. Impact of oxygation on soil respiration, yield and water use efficiency of three crop species. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 1–13, 2010.

CHODAK, M.; GOŁĘBIEWSKI, M.; MORAWSKA-PŁOSKONKA, J.; KUDUK, K.; NIKLIŃSKA, M. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 64, p. 7–14, 2013.

COLE, M. A. Lead inhibition of enzyme synthesis in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 33, n. 2, p. 262–268, 1977.

CORDEIRO, M. A. S.; CORÁ, J. E.; NAHAS, E. Atributos bioquímicos e químicos do solo rizosférico e não rizosférico de culturas em rotação no sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1794–1803, 2012.

COSTA, T. R. C. **Comunidade bacteriana, atributos do solo e fluxos de gases em solos sob cerrado e cana-de-açúcar**. 2010. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

DEGELMANN, D. M.; BORKEN, W.; DRAKE, H. L.; KOLB, S. Different atmospheric methane-oxidizing communities in European Beech and Norway spruce soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 76, n. 10, p. 3228–3235, 2010.

DORODNIKOV, M.; KUZYAKOV, Y.; FANGMEIER, A.; WIESENBERG, G. L. B. C and N in soil organic matter density fractions under elevated atmospheric CO₂: Turnover vs. Stabilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 579–589, 2011.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. 212 p.

FANG, C.; MONCRIEFF, J. B.; GHOLZ, H. L.; KENNETH, L. C. Soil CO₂ efflux and its spatial variation in a Florida slash pine plantation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 205, n. 2, p. 135–146, 1998.

FANG, C.; MONCRIEFF, J. B. A model for soil CO₂ production and transport 1: Model development. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 95, n. 4, p. 225–236, 1999.

FIGUEIREDO, E. B.; PANOSSO, A. R.; REICOSKY, D. C.; LA SCALA, N. Short-term CO₂-C emissions from soil prior to sugarcane (*Saccharum* spp.) replanting in southern Brazil. **Global Change Biology Bioenergy**, West Sussex, v. 7, n. 2, p. 316–327, 2015.

FÓTI, S.; BALOGH, J.; HERBST, M.; PAPP, M.; KONCZ, P.; BARTHA, S.; ZIMMERMANN, Z.; KOMOLY, C.; SZABÓ, G.; MARGÓCZI, K.; ACOSTA, M.; NAGY, Z. Meta-analysis of field scale spatial variability of grassland soil CO₂ efflux: Interaction of biotic and abiotic drivers. **Catena**, Amsterdam, v. 143, p. 78–89, 2016.

FUENTES, J. P.; BEZDICEK, D. F.; FLURY, M.; ALBRECHT, S.; SMITH, J. L. Microbial activity affected by lime in a long-term no-till soil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 88, n. 1–2, p. 123–131, 2006.

GRAF, A.; HERBST, M.; WEIHERMÜLLER, L.; HUISMAN, J. A.; PROLINGHEUER, N.; BORNEMANN, L.; VEREECKEN, H. Analyzing spatiotemporal variability of heterotrophic soil respiration at the field scale using orthogonal functions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 181–182, p. 91–101, 2012.

GRAF, A.; PROLINGHEUER, N.; SCHICKLING, A.; SCHMIDT, M.; SCHNEIDER, K.; SCHÜTTEMEYER, D.; HERBST, M.; HUISMAN, J. A.; WEIHERMÜLLER, L.; SCHARNAGL, B.; STEENPASS, C.; HARMS, R.; VEREECKEN, H. Temporal downscaling of soil CO₂ efflux measurements based on time-stable patterns. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 10, n. 1, p. 239–251, 2010.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 688 p.

HAYDEN, H. L.; DRAKE, J.; IMHOF, M.; OXLEY, A. P. A.; NORNG, S.; MELE, P. M. The abundance of nitrogen cycle genes *amoA* and *nifH* depends on land-uses and soil types in South-Eastern Australia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 10, p. 1774–1783, 2010.

HECKRATH, G.; DJURHUUS, J.; QUINE, T. A.; VAN OOST, K.; GOVERS, G.; ZHANG, Y. Tillage erosion and its effect on soil properties and crop yield in Denmark. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 34, n. 1, p. 312–324, 2005.

HERBST, M.; BORNEMANN, L.; GRAF, A.; VEREECKEN, H.; AMELUNG, W. A geostatistical approach to the field-scale pattern of heterotrophic soil CO₂ emission using covariates. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 111, n. 1, p. 377–392, 2012.

HERBST, M.; PROLINGHEUER, N.; GRAF, A.; HUISMAN, J. A.; WEIHERMÜLLER, L.; VANDEBORGH, J. Characterization and understanding of bare soil respiration spatial variability at plot scale. **Vadose Zone Journal**, Madison, v. 8, n. 3, p. 762–771, 2009.

HOOPER, D. U.; BIGNELL, D. E.; BROWN, V. K.; BRUSSAARD, L.; DANGERFIELD, J. M.; WALL, D. H.; WARDLE, D. A.; COLEMAN, D. C.; GILLER, K. E.; LAVELLE, P.; VAN DER PUTTEN, W. H.; RUITER, P. C.; RUSEK, J.; SILVER, W.; TIEDJE, J. M.; WOLTERS, V. Interactions between above- and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks. **BioScience**, Cary, v. 50, n. 12, p. 1049–1061, 2000.

HU, W.; SHAO, M.; HAN, F.; REICHARDT, K. Spatio-temporal variability behavior of land surface soil water content in shrub- and grass-land. **Geoderma**, Amsterdam, v. 162, n. 3–4, p. 260–272, 2011.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO Jr., O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 288–296, 2009.

IAMAGUTI, J. L.; MOITINHO, M. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; BICALHO, E. D. S.; PANOSSO, A. R.; LA SCALA, N. Preparo do solo e emissão de CO₂, temperatura e umidade do solo em área canavieira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 5, p. 497–504, 2015.

ISAAKS, E. H.; SRIVASTAVA, R. M. **Applied geostatistics**. New York: Oxford University Press, 1989. 561 p.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 27, n. 4, p. 408–416, 1998.

JI, B.; ZHAO, Y.; MU, X.; LIU, K.; LI, C. Effects of tillage on soil physical properties and root growth of maize in loam and clay in central China. **Plant, Soil and Environment**, Prague, v. 59, n. 7, p. 295–302, 2013.

JIMÉNEZ-BUENO, N. G.; VALENZUELA-ENCINAS, C.; MARSCH, R.; ORTIZ-GUTIÉRREZ, D.; VERHULST, N.; GOVAERTS, B.; DENDOOVEN, L.; NAVARRO-NOYA, Y. E. Bacterial indicator taxa in soils under different long-term agricultural management. **Journal of Applied Microbiology**, West Sussex, v. 120, n. 4, p. 921–933, 2016.

KAINIEMI, V. **Tillage effects on soil respiration in Swedish Arable soils**. 2014. 68 f. Doctoral Thesis (Doctorate in Soil and Environment) – Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Uppsala, 2014.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, New York, v. 23, n. 3, p. 187–200, 1958.

KANAZAWA, S.; MIYASHITA, K. A. Modified method for determination of cellulase activity in forest soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, Singapore, v. 32, n. 1, p. 71–79, 1986.

KATSALIROU, E.; DENG, S.; NOFZIGER, D. L.; GERAKIS, A.; FUHLENDORF, S. D. Spatial structure of microbial biomass and activity in prairie soil ecosystems. **European Journal of Soil Biology**, Issy les Moulineaux, v. 46, n. 3–4, p. 181–189, 2010.

KONDA, R.; OHTA, S.; ISHIZUKA, S.; ARIA, S.; ANSORI, S.; TANAKA, N.; HARDJONO, A. Spatial structures of N₂O, CO₂, and CH₄ fluxes from *Acacia mangium* plantation soils during a relatively dry season in Indonesia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 12, p. 3021–3030, 2008.

KONDA, R.; OHTA, S.; ISHIZUKA, S.; HERIYANTO, J.; WICAKSONO, A. Seasonal changes in the spatial structures of N₂O, CO₂, and CH₄ fluxes from *Acacia mangium* plantation soils in Indonesia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 9, p. 1512–1522, 2010.

KOSUGI, Y.; MITANI, T.; LTOH, M.; NOGUCHI, S.; TANI, M.; MATSUO, N.; TAKANASHI, S.; OHKUBO, S.; NIK, A. R. Spatial and temporal variation in soil respiration in a Southeast Asian tropical rainforest. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 147, n. 1–2, p. 35–47, 2007.

KUZYAKOV, Y. Sources of CO₂ efflux from soil and review of partitioning methods. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 425–448, 2006.

LAL, R. Challenges and opportunities in soil organic matter research. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 158–169, 2009.

LA SCALA, N.; BOLONHEZI, D.; PEREIRA, G. T. Short-term soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage of a no-till sugar cane area in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, n. 1–2, p. 244–248, 2006.

LA SCALA, N.; MARQUES Jr., J.; PEREIRA, G. T.; CORÁ, J. E. Short-term temporal changes in the spatial variability model of CO₂ emissions from a Brazilian bare soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 10, p. 1459-1462, 2000.

LA SCALA, N.; MENDONÇA, E. S.; SOUZA, J. V.; PANOSSO, A. R.; SIMAS, F. N. B.; SCHAEFER, C. E. G. R. Spatial and temporal variability in soil CO₂-C emissions and relation to soil temperature at King George Island, maritime Antarctica. **Polar Science**, Amsterdam, v. 4, n. 3, p. 479-487, 2010.

LUESKEN, F. A.; ZHU, B.; VAN ALLEN, T. A.; BUTLER, M. K.; RODRIGUEZ DIAZ, M.; SONG, B.; OP DEN CAMP, H. J. M.; JETTEN, M. S. M.; ETTWIG, K. F. pmoA primers for detection of anaerobic methanotrophs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 77, n. 11, p. 3877-3880, 2011.

MACDONALD, J. D., ANGERS, D. A., ROCHETTE, P., CHANTIGNY, M. H., ROYER, I.; GASSER, M.-O. Plowing a poorly drained grassland reduced soil respiration all rights reserved. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 74, n. 6, p. 2067-2076, 2010.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p. 257-263, 1999.

McGARITY, J. W.; MYERS, M. G. A survey of urease activity in soils of northern New South Wales. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 27, n. 2, p. 217-238, 1967.

MENDES, L. W. **Análise molecular das estruturas e diversidade de comunidades microbianas em solo de manguezal preservado da Ilha do Cardoso-SP**. 2009. 143 f. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

METCALFE, D. B.; LOBO-DO-VALE, R.; CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; ARAGÃO, L. E. O. C.; MALHI, Y.; COSTA, A. C. L.; BRAGA, A. P.; GONÇALVES, P. H. L.; SILVA JUNIOR, J. A.; COSTA, M. C.; ALMEIDA, S. S.; CAMPBELL, C.; HURRY, V.; WILLIAMS, M.; MEIR, P. Impacts of experimentally imposed drought on leaf respiration and morphology in an Amazon rain forest. **Functional Ecology**, West Sussex, v. 24, n. 3, p. 524-533, 2010.

MOITINHO, M. R.; PADOVAN, M. P.; PANOSSO, A. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; FERRAUDO, A. S.; LA SCALA, N. On the spatial and temporal dependence of CO₂ emission on soil properties in sugarcane (*Saccharum* spp.) production. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 148, p. 127–132, 2015.

MONTANARI, R.; CARVALHO, M. P.; ANDREOTTI, M.; DALCHIAVON, F. C.; LOVERA, L. H.; HONORATO, M. A. O. Aspectos da produtividade do feijão correlacionados com atributos físicos do solo sob elevado nível tecnológico de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1811–1822, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

MOYANO, F. E.; VASILYEVA, N.; BOUCKAERT, L.; COOK, F.; CRAINE, J.; CURIEL YUSTE, J.; DON, A.; EPRON, D.; FORMANEK, P.; FRANZLUEBBERS, A.; ILSTEDT, U.; KÄTTERER, T.; ORCHARD, V.; REICHSTEIN, M.; REY, A.; RUAMPS, L.; SUBKE, J. A.; THOMSEN, I. K.; CHENU, C. The moisture response of soil heterotrophic respiration: interaction with soil properties. **Biogeosciences**, Goettingen, v. 9, n. 3, p. 1173–1182, 2012.

NAVARRETE, A. A.; SOARES, T.; ROSSETTO, R.; VAN VEEN, J. A.; TSAI, S. M.; KURAMAE, E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 108, n. 3, p. 741–752, 2015.

OHASHI, M.; GYOKUSEN, K. Temporal change in spatial variability of soil respiration on a slope of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don) forest. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 1130–1138, 2007.

OLIVER, M. A.; WEBSTER, A. R. A tutorial guide to geostatistics: Computing and modelling variograms and kriging. **Catena**, Amsterdam, v. 113, p. 56–69, 2014.

PANCHOLY, K. S.; RICE, E. L. Soil enzymes in relation to old field succession. Amylase, cellulase, invertase, dehydrogenase and urease. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 37, n. 1, p. 47–50, 1973.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr., J.; MILORI, D. M. B. P.; FERRAUDO, A. S.; BARBIERI, D. M.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Soil CO₂ emission and its relation to soil properties in sugarcane areas under Slash-and-burn and Green harvest. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 111, n. 2, p. 190–196, 2011.

PANOSSO, A. R.; MARQUES Jr. J.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Spatial and temporal variability of soil CO₂ emission in a sugarcane area under green and slash-and-burn managements. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 275–282, 2009.

PAPIERNIK, S. K.; LINDSTROM, M. J.; SCHUMACHER, T. E.; SCHUMACHER, J. A.; MALO, D. D.; LOBB, D. A. Characterization of soil profiles in a landscape affected by long-term tillage. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 93, n. 2, p. 335–345, 2007.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; YEOH, Y. K.; KASINADHUNI, N. R. P.; LONHIENNE, T.; ROBINSON, N.; HUGENHOLTZ, P.; RAGAN, M.; SCHMIDT, S. Nitrogen fertiliser dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific Reports** **5**, London, n. 8678, 2015.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 18. ed. São Paulo: Nobel, 2006. 541 p.

REICOSKY, D. C.; ARCHER, D. W. Moldboard plow tillage depth short-term carbon dioxide release. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 109–121, 2007.

RETH, S.; REICHSTEIN, M.; FALGE, E. The effect of soil water content, soil temperature, soil pH- value and the root mass on soil CO₂ efflux – a modified model. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 268, n. 1, p. 21–33, 2005.

RODRIGUES, T. B. **Diversidade metagenômica microbiana de biomas terrestres e marinhos**. 2011. 269 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Genética) – Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

ROUSK, J.; BÅÅTH, E.; BROOKES, P. C.; LAUBER, C. L.; LOZUPONE, C.; CAPORASO, J. G.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **ISME Journal**, London, v. 4, n. 10, p. 1340–1351, 2010.

SAIZ, G.; GREEN, C.; BUTTERBACH-BAHL, K.; KIESE, R.; AVITABILE, V.; FARRELL, E. P. Seasonal and spatial variability of soil respiration in four Sitka spruce stands. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 287, n. 1, p. 161–176, 2006.

SALAZAR, S.; SÁNCHEZ, L. E.; ALVAREZ, J.; VALVERDE, A.; GALINDO, P.; IGUAL, J. M.; PEIX, A.; SANTA-REGINA, I. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 37, n. 8, p. 1123–1131, 2011.

SAMBORSKA, A.; STEPNIEWSKA, Z.; STEPNIEWSKI, W. Influence of different oxidation states of chromium (VI, III) on soil urease activity. **Geoderma**, Amsterdam, v. 122, n. 2–4, p. 317–322, 2004.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: A Laboratory manual**. 2. ed. Cold Spring Harbor: Laboratory Press, 1989. p. 125–130.

SAMIE, N.; NOGHABI, K. A.; GHAREGOZLOO, Z.; ZAHIRI, H. S.; AHMADIAN, G.; SHARAFI, H.; BEHROZI, R.; VALI, H. Psychrophilic α -amilase from *Aeromonas veronii* NS07 isolated from farm soils. **Process Biochemistry**, London, v. 47, n. 9, p. 1381–1387, 2012.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; OLIVEIRA, J. B.; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

SCOTT-DENTON, L. E.; SPARKS, K. L.; MONSON, R. K. Spatial and temporal controls of soil respiration rate in a high-elevation, subalpine forest. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 525–534, 2003.

SEIDEL, E. J.; OLIVEIRA, M. S. A classification for a geostatistical index of spatial dependence. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, p. e0160007, 2016.

SILVA, E. D. F.; MOITINHO, M. R.; TEIXEIRA, D. D. B.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Emissão de CO₂ do solo associada à calagem em área de conversão de laranja para cana-de-açúcar. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 34, n. 5, p. 885–898, 2014.

SILVA-OLAYA, A. M.; CERRI, C. E. P.; LA SCALA, N.; DIAS, C. T. S.; CERRI, C. C. Carbon dioxide emissions under different soil tillage systems in mechanically harvested sugarcane. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2013.

SIX, J.; FREY, S. D.; THIES, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 70, n. 2, p. 555–569, 2006.

SNAPP, S. S.; GENTRY, L. E.; HARWOOD, R. Management intensity – not biodiversity – the driver of ecosystem services in a long-term row crop experiment. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 138, n. 3–4, p. 242–248, 2010.

SOANE, B. D.; BALL, B. C.; ARVIDSSON, J.; BASCH, G.; MORENO, F.; ROGERESTRADE, J. No-till in northern, western and south-western Europe: A review of problems and opportunities for crop production and the environment. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 118, p. 66–87, 2012.

SOE, A. R. B.; BUCHMANN, N. Spatial and temporal variations in soil respiration in relation to stand structure and soil parameters in an unmanaged beech forest. **Tree Physiology**, Oxford, v. 25, n. 11, p. 1427–1436, 2005.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 195, n. 1, p. 19–23, 1952.

SOTTA, E. D.; VELDKAMP, E.; GUIMARÃES, B. R.; PAIXÃO, R. K.; RUIVO, M. L. P.; ALMEIDA, S. S. Landscape and climatic controls on spatial and temporal variation in soil CO₂ efflux in an Eastern Amazonian Rainforest, Caxiuana, Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 237, n. 1–3, p. 57–64, 2006.

STOYAN, H.; DE-POLLI, H.; BÖHM, S.; ROBERTSON, G. P.; PAUL, E. A. Spatial heterogeneity of soil respiration and related properties at the plant scale. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 222, n. 1–2, p. 203–214, 2000.

TAVARES, R. L. M.; SOUZA, Z. M.; LA SCALA, N.; CASTIONI, G. A. F.; SOUZA, G. S.; TORRES, J. L. T. Spatial and temporal variability of soil CO₂ flux in sugarcane green harvest systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, p. e0150252, 2016.

TEDESCHI, V.; REY, A.; MANCA, G.; VALENTINI, R.; JARVIS, P. L.; BORGHETTI, M. Canadian boreal forest. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 35–45, 2006.

TEIXEIRA, D. D. B.; BICALHO, E. S.; PANOSSO, A. R.; PERILLO, L. I.; IAMAGUTI, J. L.; PEREIRA, G. T.; LA SCALA, N. Uncertainties in the prediction of spatial variability of soil CO₂ emissions and related properties. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1466–1475, 2012.

TEIXEIRA, L. G.; LOPES, A.; LA SCALA, N. Temporal variability of soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage described by an exponential decay in time model. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 224–231, 2010.

TORSVIK, V.; ØVREAS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 240–245, 2002.

TRIPAHTI, B. M.; KIM, M.; SINGH, D.; LEE-CRUZ, L.; LAI-HOE, A.; AINUDDIN, A. N.; GO, R.; RAHIM, R. A.; HUSNI, M. H.; CHUN, J.; ADAMS, J. M. Tropical soil bacterial communities in Malaysia: pH dominates in the equatorial tropics too. **Microbial Ecology**, New York, v. 64, n. 2, p. 474–484, 2012.

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M. Efeitos de fatores físicos e químicos sobre os microrganismos do solo umidade e aeração. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 60–89.

VELDKAMP, E. Organic carbon turnover in three tropical soils under pasture after deforestation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 58, n. 1, p. 175–180, 1994.

VIEIRA, S. R. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVARE, V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 1–54.

WALLENSTEIN, M. D.; VILGALYS, R. J. Quantitative analyses of nitrogen cycling genes in soils. **Pedobiologia**, Muenchen, v. 49, n. 6, p. 665–672, 2005.

WARRICK, A. W.; NIELSEN, D. R. Spatial variability of soil physical properties in the field. In: HILLEL, D. (Ed.) **Applications of Soil Physics**. New York: Academic Press, 1980. p. 319–344.

XU, M.; QI, Y. Soil-surface CO₂ efflux and its spatial and temporal variations in a Young ponderosa pine plantation in northern California. **Global Change Biology**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 667–677, 2001.

YANG, L.; LI, T.; LI, F.; LEMCOFF, J. H.; COHEN, S. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 21–26, 2008.

YIM, M. H.; JOO, S. J.; SHUTOU, K.; NAKANE, K. Spatial variability of soil respiration in a larch plantation: estimation of the number of sampling points required. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 175, n. 1–3, p. 585–588, 2003.

CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES

Acompanhando o significativo aumento da população mundial está a demanda cada vez mais crescente por alimentos, e em mesmo ritmo a alarmante necessidade por novas áreas agrícolas e recursos naturais. Ainda, na contramão a esse panorama surgem as preocupações com a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

Portanto, alimentar sete bilhões de pessoas com sustentabilidade ambiental é um dos vários desafios das gerações futuras diante dos novos rumos da agricultura mundial.

As mudanças no uso e manejo dos solos causam alterações significativas em seus atributos, impactando na magnitude da emissão de gases de efeito estufa, principalmente o CO₂. Além do aumento da concentração de CO₂ na atmosfera e as já conhecidas consequências relacionadas à alteração no clima, a perda do carbono para a atmosfera via emissão de CO₂ (C-CO₂), é também uma grande ameaça para o solo.

Neste contexto, o sistema de colheita da cana crua, no qual até 13 t ha⁻¹ de resíduo da cultura são mantidos sobre o solo favorece condições propícias para o maior teor de umidade com consequente redução da temperatura do solo quando comparado ao sistema de manejo no qual a colheita é realizada manualmente após a queimada da cana.

Em adição, o solo sob manejo da cana crua pode ser considerado um sistema conservacionista devido ao fato de que, além de apresentar maior estoque de carbono e maior estabilidade desse carbono no solo ele também emite menos CO₂ para a atmosfera quando comparado ao sistema com queima.

Após o término do ciclo produtivo da cana-de-açúcar são estabelecidas as atividades de reforma do canavial que incluem o preparo e a correção do solo, as quais também acentuam as perdas de CO₂ do solo para a atmosfera. Ainda, em mesma área considerada homogênea, após tais atividades, ocorrem regiões com distintos potenciais para a emissão de CO₂ apresentando grande variabilidade espacial associada a diferentes padrões físicos, químicos e microbiológicos do solo.

Desta forma, observou-se que a região que apresentava maior emissão de CO₂ estava associada a maior atividade microbiana do solo, regulada pela abundância do gene funcional relacionado ao ciclo do carbono (*pmoA*), a maior biossíntese das

enzimas: desidrogenase, amilase e urease, além do carbono associado a biomassa microbiana.

Ainda, pode-se concluir que a microbiota presente na mesma região de maior emissão de CO₂ foi favorecida pelas condições de menor relação C/N do solo e melhor estado nutricional verificado pelo maior teor de matéria orgânica do solo, Ca e Mg, além de melhores condições de aeração, devido ao maior porcentual de macroporos e porosidade livre de água na região em questão.

Diante do fato de que os novos rumos da agricultura mundial preveem aumentar a eficiência de práticas convencionais de manejo do solo e da cultura, compreender o padrão espacial dos atributos do solo e sua influência sobre as emissões adicionais de CO₂ em áreas de cana-de-açúcar pode ser muito importante na gestão ambiental e no planejamento do uso do solo.